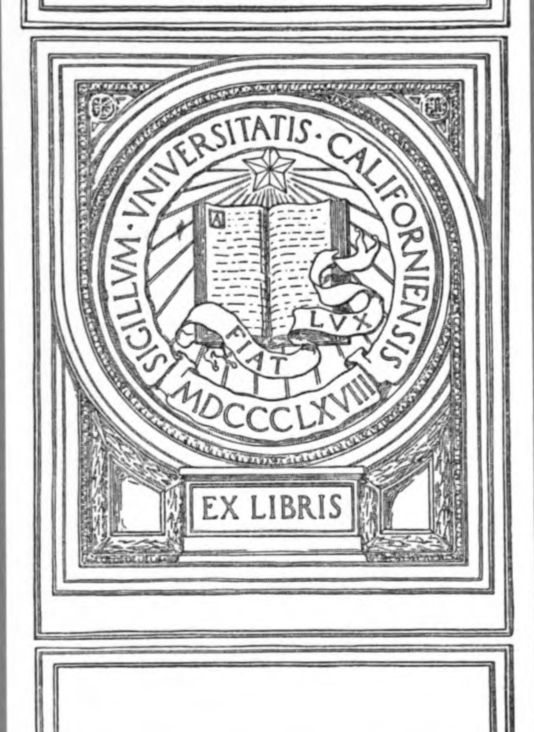
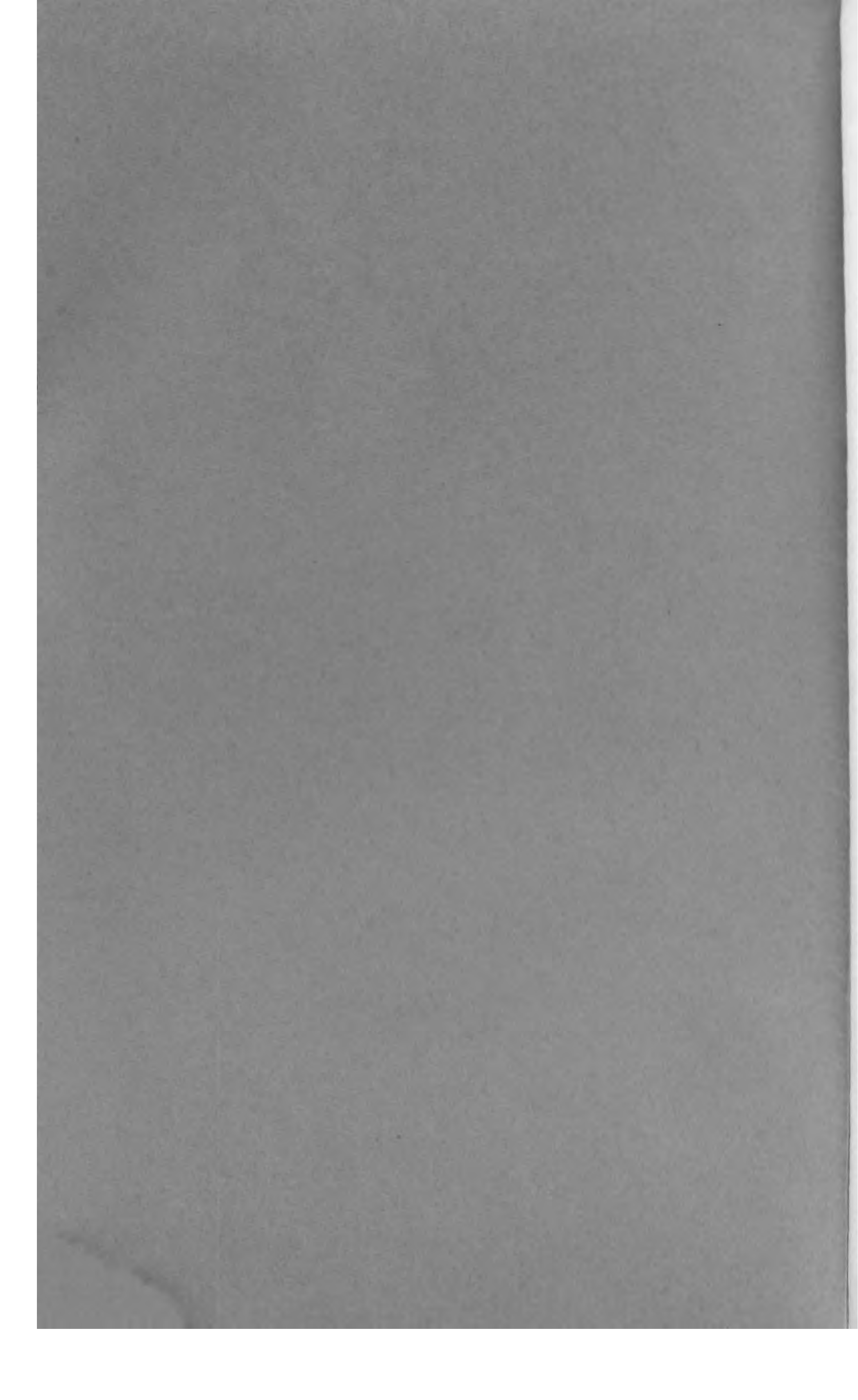
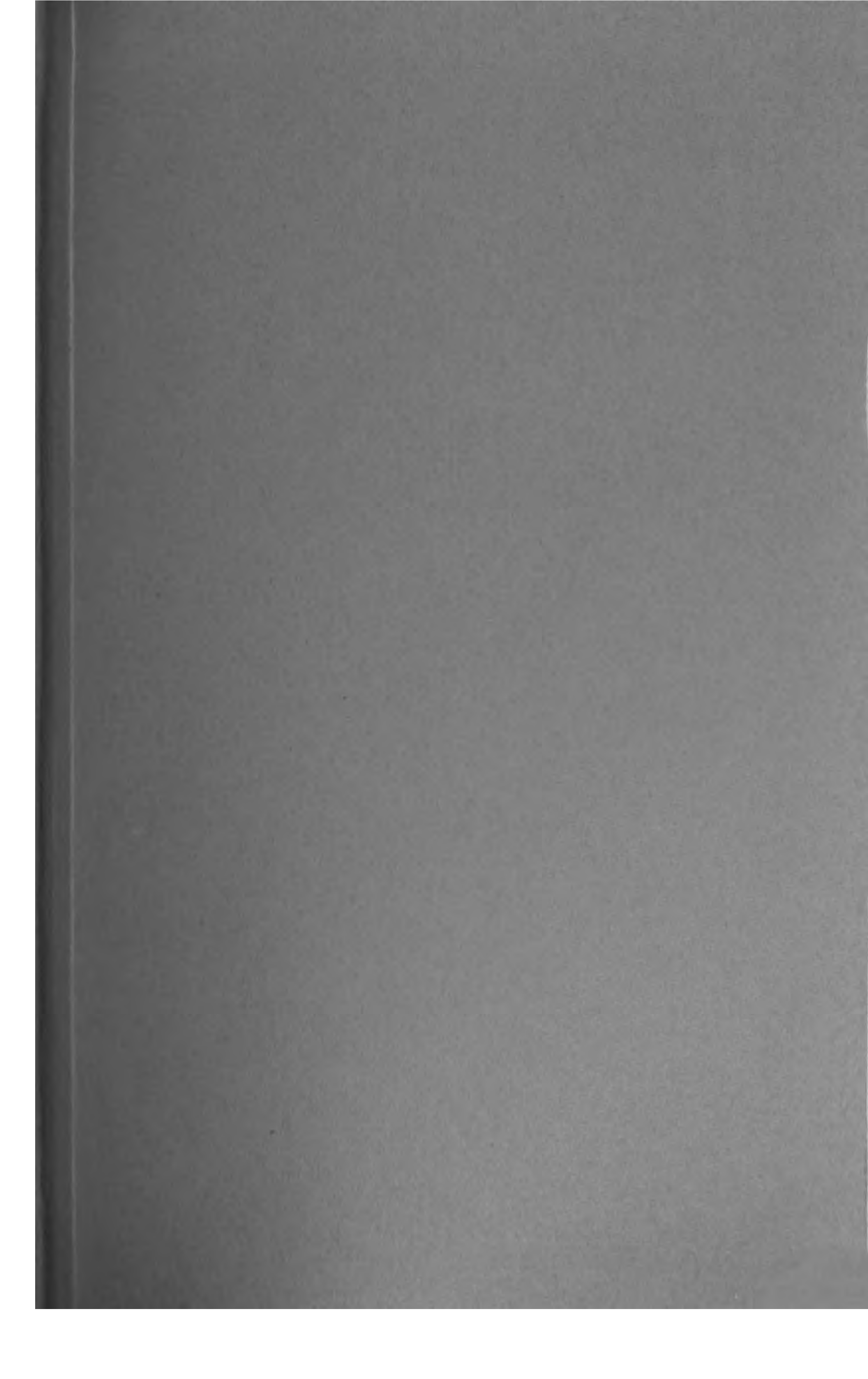

UC-NRLF
B 3 778 058

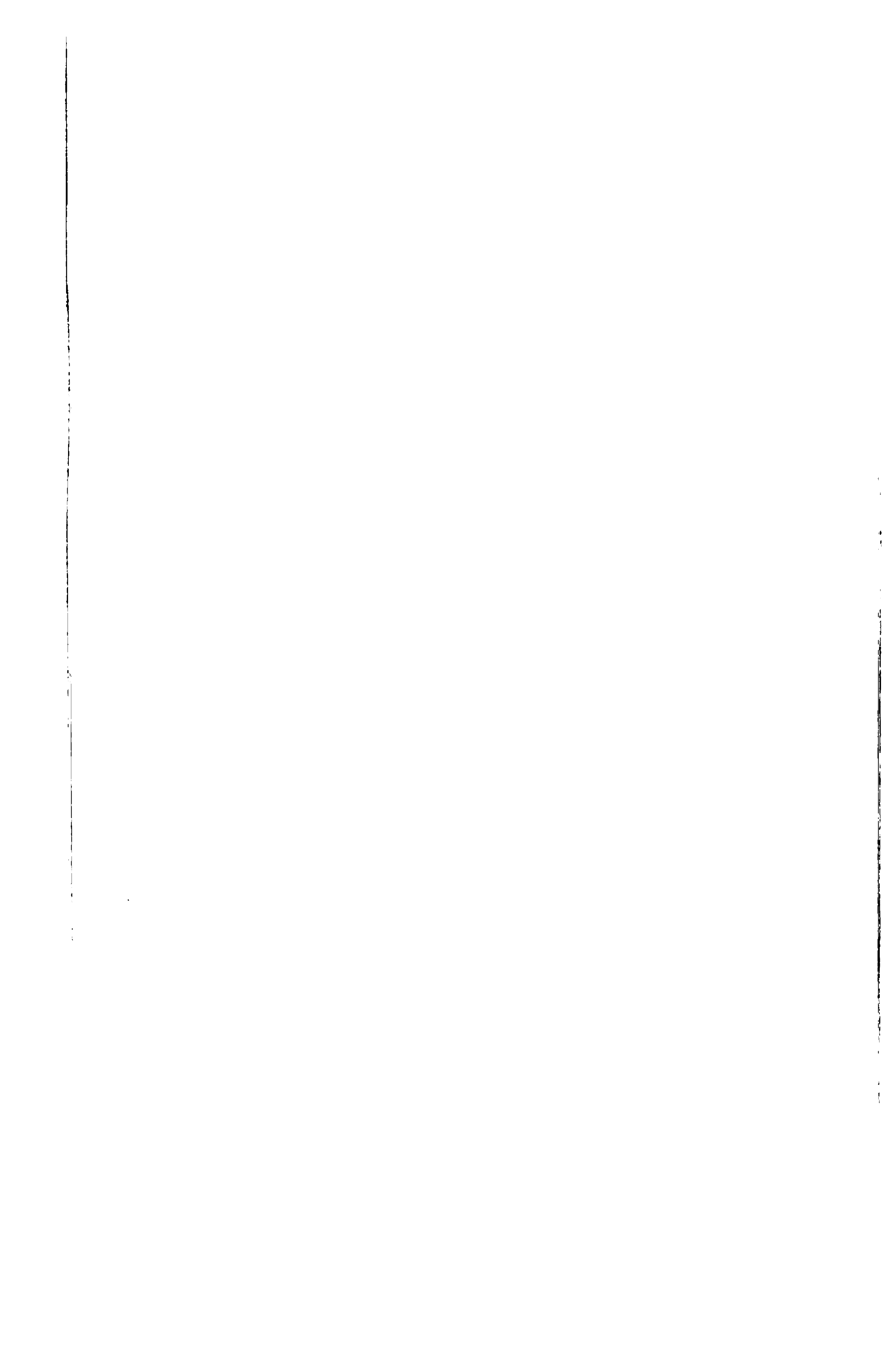
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO











12 \

# Biochemische Zeitschrift

## Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

**F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin,**

unter Mitwirkung von

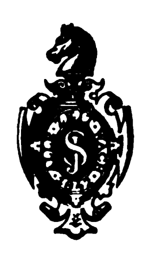
M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., F. Czapek-Leipzig, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, J. Feigl-Hamburg, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest, E. Hägglund-Åbo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-New York, Ldw. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Liestal, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

**C. Neuberg-Berlin**

Hunderteinundzwanzigster Band

Manulnachdruck



**Berlin**

Verlag von Julius Springer

1921

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

# Inhaltsverzeichnis.

---

# Über die pharmakologische Wirkung des kolloidalen Arsensulfids.

Von

**E. Meneghetti.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Kgl. Universität von Padua.)

*(Eingegangen am 17. Mai 1921.)*

**Mit 2 Abbildungen im Text.**

**Inhaltsverzeichnis:**



## Einleitung.

Die Arsensulfide sowie die Verbindungen des Schwefels im allgemeinen, sind bis auf die Gegenwart therapeutisch nur wenig zur Verwendung gelangt; auch besitzen wir nur spärliche pharma-

kologische Arbeiten über diese Verbindungen. Drei Arten des Arsensulfids sind bekannt: $As_4S_4$, $As_2S_3$ und $As_2S_5$.

Die geringe Löslichkeit dieser Verbindungen, ihre geringe und unsichere Absorptionsfähigkeit haben am meisten dazu beigetragen, daß sie bis jetzt nur wenig auf therapeutischem Gebiete zur Verwendung gelangten, und daß ihre pharmakologischen Eigenschaften nur wenig untersucht wurden. Die einzige Arsenschwefelverbindung, welche gegenwärtig medizinisch zur Verwendung gelangt ist, ist das Arsentrisulfid.

Es wird nur in seltenen Fällen als Ätzmittel gebraucht, hauptsächlich als Haarentfernungsmittel. Seine innerliche Einwirkung auf den Gesamtorganismus, die dabei entstehende Leukocytose und schließlich die vermutete Angewöhnung des Körpers an Arsen, wurden eingehend von Beseredka[1]) untersucht und auch von mir bereits in einer früheren Arbeit näher besprochen[2]). Der soeben genannte Autor hatte in seinen Versuchen ein amorphes Arsentrisulfid, dessen chemische Zusammensetzung noch nicht näher bekannt ist, verwendet.

Es scheint nur eine Möglichkeit vorhanden zu sein, um dieses unlösliche Sulfid auf seine pharmakologischen Eigenschaften prüfen zu können, und zwar die Prüfung in seinem kolloidalen Zustande. In diesem Zustande ist es sowohl vom chemischen als auch vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus sehr eingehend studiert worden. [Siehe Abegg[3]) und Svedberg[4]).] Dieses Sulfid kann zu denjenigen anorganischen Kolloiden gezählt werden, die uns zur Zeit am besten bekannt sind.

Vom pharmakologischen Standpunkte aus, wurde diese Verbindung, meines Wissens nach, nur von Foa und Agazzotti[5]) untersucht.

Die Autoren haben sich hauptsächlich mit der verschiedenen Wirkungsart der kolloidalen Lösungen des Arsensulfids in seinen verschiedenen Größen der einzelnen Teilchen beschäftigt. Diese Autoren berichten, daß die von ihnen gebrauchten Lösungen immer eine gewisse Menge Arsenigsäureanhydrid, die nicht außer acht gelassen werden darf, enthalten, und der Wirkung dieser arsenigen Säure nach innerlicher Verabreichung von kolloidalen Arsensulfidlösungen schreiben sie den letalen Ausgang zu. Es scheint mir daher wohl die Behauptung nicht allzu gewagt, daß nämlich die pharmakologische Wirkung des kolloidalen Arsentrisulfids in seinen vielseitigen mechanischen, chemischen und chemisch-physischen Faktoren wohl noch gar nicht untersucht wurde.

In dieser Arbeit habe ich mir zur Aufgabe gestellt, erstens den Wert dieser Faktoren von verschiedenen Standpunkten aus be-

trachtet, zu untersuchen, zweitens die von mir bereits von früher her angestellten Untersuchungen über das Arsen auszudehnen, und drittens mit einem neuen Kapitel einen Beitrag zu den Arbeiten über die kolloidalen Sulfide, die an unserer Anstalt ausgeführt werden, zu liefern.

## II. Besprechung der dabei verwendeten kolloidalen Lösungen.

### a) Darstellungsweise:

Das Arsentrisulfid kann durch verschiedene Methoden im Hydrosolzustande erhalten werden:

1. Durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf eine neutrale wäßrige Lösung von Arsentrioxyd. Berzelius[6]), Schulze, Picton, Küster, Dahmer[7]), Freundlich.

2. Durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf einer Natriumarsenit-Lösung. Picton.

3. Durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf einer Kaliumarsenyltartrat-Lösung. Picton.

4. Indem man ein kolloidales Schutzmittel wie Gummi oder Casein gebraucht. Müller, Artmann[8]).

Die einfachste Darstellungsweise ist die erstgenannte, die auch in dieser Arbeit nach Schulzes Angaben angewendet wurde. Nach dieser Methode gelingt uns Lösungen in den verschiedenartigsten Konzentrationen zu erhalten. Ich muß voraussetzen, daß die Charaktere des Kolloids (Farbe, Aussehen, Zustand, Dispersionsvermögen) vom Grade der Konzentration der Lösung, aus der sie hergestellt wurden, abhängen. So kann man sehen, daß z. B. bei gleicher Konzentration, die durch Verdünnung der verschiedenen ursprünglichen Lösungen erhalten wird, die Charaktere, besonders in betreff der Größe der Teilchen, verschieden sind. Und aus diesem Grunde wurden alle Lösungen, die in unseren Versuchen Verwendung fanden, bei möglichst konstanter Konzentration gehalten, indem man sich immer an eine gleiche, bis ins Detail gehende Darstellungsweise hielt.

1 g reinsten Arsenigsäureanhydrids wird in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst, darauf längere Zeit hindurch gekocht. Nach Abkühlung wird die Lösung mit destilliertem und gekochtem Wasser auf 100 ccm nachgefüllt. Sodann wird diese Lösung mit 100 ccm Schwefelwasserstoffwasser vermischt. Durch diese neue Lösung wird einige Minuten lang Schwefelwasserstoff geleitet so, daß die Lösung nicht nur gesättigt wird, sondern auch ein Überschuß an Schwefelwasserstoff entsteht.

Durch diese Darstellungsweise kann die Überführung der arsenigen Säure in Arsentrisulfid als vollkommen betrachtet werden (Küster und Dahmer), denn obwohl durch Hydrolyse eine Gleichgewichtsreaktion entsteht,

$$As_2S_3 + 3\,H_2O \rightleftarrows As_2O_3 + 3H_2S\,,$$

so kann die Konzentration der arsenigen Säure ($As_2O_3$), die auch bei dem geringsten Überschuß an Schwefelwasserstoff unzersetzbar bleibt, nur ganz minimal sein.

Angenommen, daß uns eine gesättigte Lösung von $As_2S_3$ gänzlich hydrolysiert vorliege, so haben wir das Maximum der Konzentration von $As_2O_3$ erreicht, die von Biltz[*]) auf $2{,}1 \cdot 10^{-6}$ g Mol pro Liter Wasser zu 18° ausgerechnet wurde entsprechend ungefähr 0,0004 g $As_2O_3$, mit anderen Worten, wir haben eine Lösung im Verhältnis von 1 : 2500000. Wenn man bedenkt, daß die Maximaldose des injizierten $As_2S_3$ 25 ccm einer 0,603 proz. $As_2S_3$-Lösung betrug, und daß die Minimaldose von $As_2S_3$, die intravenös injiziert ein Kaninchen noch töten kann, ungefähr 0,0005 pro Kilogramm (2) beträgt, so ist es klar, daß die in Betracht gezogene Unreinheit des Präparates auf keinen Fall irgend welchen Einfluß auf das Ergebnis der Experimente haben kann. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wurde teilweise durch mäßiges Erhitzen einige Minuten hindurch im Wasserbade entfernt, wobei Sorge getragen wurde, daß durch das Erhitzen nicht eine Hydrolyse des Sulfids eintrat, die obwohl quantitativ sehr gering, doch zur Elimination von Schwefelwasserstoff und Neubildung von $As_2O_3$ hätte führen können.

Ich muß auch die wohlbekannte Tatsache in Erinnerung bringen, daß bei der Entfernung des Überschusses an Schwefelwasserstoff durch Einleiten von Wasserstoff, eine teilweise Zersetzung des Arsensulfids eintritt. Auch ist es nicht zweckmäßig zur Dialyse zu greifen, die, obwohl sie die Schwefelwasserstoffbeimengungen vollkommen beseitigt, ebenfalls nicht genügend wäre, um die arsenige Säure aus den Lösungen zu entfernen. Vielmehr, kann die Verunreinigung durch $As_2O_3$, gleichgültig welches Mittel zu deren Entfernung man anwendet, zunehmen anstatt abnehmen, sobald die Behandlung eine etwas längere Zeit erfordert. Andererseits ist es bekannt, daß das kolloidale Arsentrisulfid stets $H_2S$ in größerer Menge enthält als es das Molekularverhältnis 2 : 3 erfordert, eine Tatsache, die von der Bildung einer

neuen Hydrosulfidverbindung oder aber, was auch wahrscheinlicher ist, von einer Absorptionserscheinung abhängt.

Aus diesen Gründen, chemischer und chemisch-physikalischer Natur, ist es nicht zweckmäßig um den vollen Überschuß an $H_2S$ zu entfernen, eine langdauernde Erhitzung anzuwenden, um so mehr, da dessen vollkommene Entfernung für die pharmakologischen Untersuchungen nicht nötig ist. Denn es ist bekannt, daß seine Anwesenheit in so geringen Mengen, wegen der raschen Elimination aus dem tierischen Organismus, beim Tierexperiment nicht hinderlich ist.

Die Lösung wurde dann nach Schulzes Angaben titriert.

Auf diese Weise wurde aus Arsenigesäureanhydrid, destilliertem und gekochtem Wasser und Schwefelwasserstoff eine genau titrierte kolloidale $As_2S_3$-Lösung erhalten, die als Unreinheit nur eine geringe Spur Schwefelwasserstoff enthielt. Es ist außer Zweifel, daß die Lösung infolge der Hydrolyse auch $As_2O_3$ enthielt, jedoch, ich wiederhole es, in so geringen Spuren, daß es auf die Resultate der Experimente nicht den geringsten Einfluß ausübte und sogar auf chemischem Wege nicht festzustellen war. Wurde nämlich das Kolloid mit verdünnter Salzsäure zur Fällung gebracht und sodann filtriert, so erhielt man eine vollkommen farblose klare Flüssigkeit, die mit $H_2S$ weiterbehandelt, nicht die geringste Gelbfärbung aufwies. Wenn man bedenkt, daß letztgenannte Reaktion auch beim Vorhandensein von $As_2O_3$ im Verhältnis 1 : 100000 die charakteristische Gelbfärbung aufweist, so muß man den Schluß ziehen, daß die verwendeten kolloidalen Lösungen, $As_2O_3$ sicher in noch geringerer Menge enthielten, und daß die vorher ausgeführten theoretischen Betrachtungen, die eine ungefähre Konzentration im Verhältnis von 1 : 2500000 als sicher hinstellten, anzunehmen seien.

Es ist bekannt, daß sich die Lösungen lange und gut erhalten, wenn sie nicht allzu konzentriert sind und in gut verschließbaren Gefäßen aufbewahrt werden. Hingegen verändern sie sich und fallen um so schneller aus, je länger sie an der Luft bleiben oder wenn sie in schlecht verschließbaren Gefäßen aufbewahrt werden. So hat Freundlich beobachtet, daß bei gewöhnlicher Temperatur und in offenen Gefäßen 12% des Arsentrisulfids nach 3 Monaten bereits zersetzt sind. Desgleichen habe ich festgestellt, daß nach ungefähr 150 Tagen, trotzdem, die Lösungen in gefärbten und gut ver-

schlossenen Gefäßen aufbewahrt worden waren, eine sichtbare Zersetzung eingetreten war. Der Möglichkeit, zersetzte Lösungen bei den Experimenten zu verwenden, wurde dadurch vorgebeugt, daß sie immer auf gleicher Weise, rasch und jedesmal vor Gebrauch frisch angefertigt wurden. Vor der Injektion wurden sie auf ihre Reinheit geprüft, d. h. auf arsenige Säure untersucht.

### b) Physikalische Eigenschaften.

In der Tabelle I sind sämtliche verwendeten Lösungen verzeichnet. Bezüglich ihrer physikalischen Eigenschaften zeigen sie eine große Ähnlichkeit mit denen nach Dumanski[11]). Die Konzentration hat einen Wert von ungefähr 0,6%. Sie halten sich, wenn sorgfältig aufbewahrt. Zeigen eine lebhaft orangegelbe Färbung. Sind vollkommen durchsichtig beim durchfallenden Lichte und zeigen alle beim auffallenden Lichte das Tyndallsche Phänomen. Die Teilchen sind nicht einmal mit den stärksten Vergrößerungen direkt sichtbar. Ihre elektrische Ladung durch Kataphorese bestimmt, ist negativ. Im Ultramikroskop (Apparat von Siedentopf-Zsigmondy) beobachtet, zeigen sie einen Lichtkegel orangegelber Farbe und zahlreiche Teilchen hellgelber Farbe mit sehr lebhaften Brownschen

Tabelle I.

Kolloidale $As_2S_3$-Lösungen, die bei diesen Versuchen verwendet wurden.

| Fortlaufende Zahl | Datum der Herstellung | % | Anmerkungen |
|---|---|---|---|
| I | 6. VI. 1914 | 0,6030 | |
| II | 6. VI. 1914 | 0,6040 | |
| III | 28. X. 1914 | 0,6040 | |
| IV | 7. XI. 1914 | 0,5940 | |
| IV A | 7. XI. 1914 | 0,2970 | Durch Verdünnung der Lösung IV erhalten. |
| V | 29. XI. 1914 | 0,5960 | |
| V A | 29. XI. 1914 | 0,0596 | Durch Verdünnung der Lösung V erhalten. |
| VI | 8. IV. 1915 | 0,6185 | |
| VII | 22. IV. 1915 | 0,6160 | |
| VIII | 3. V. 1915 | 0,6150 | |
| IX | 18. II. 1920 | 0,5700 | |
| IX A | 19. II. 1920 | 0,0570 | Durch Verdünnung der Lösung IX ererhalten. |
| IX B | 19. II. 1920 | 0,1140 | Desgl. |
| X | 10. IV. 1920 | 0,6030 | |
| XI | 6. V. 1920 | 0,5800 | |
| XI A | 7. V. 1920 | 0,0580 | Durch Verdünnung der Lösung XI erhalten. |
| XII | 21. V. 1920 | 0,6000 | |
| XIII | 20. VI. 1920 | 0,6030 | |
| XIV | 1. VII. 1920 | 0,5940 | |

Bewegungen. Nur in einer verdünnten Lösung kann man eine vollkommene optische Dissoziation erhalten, können die Teilchen gezählt und somit der Grad der Dispersion bestimmt werden.

Das spezifische Gewicht der kolloidalen Teilchen wurde nach folgender Formel bestimmt:

$$d = \frac{p}{V - \frac{V(P-p)}{P'}}, {}^{*)}$$

wobei $p$ = das Gewicht des Kolloids;
$V$ = das Volumen der Lösung;
$P$ = das Gewicht der Lösung;
$P'$ = das Gewicht eines gleichen Volumens des Lösungsmittels ist.

Bei 20° und spezifischem Gewicht des Wassers (4° = 1) 999,160, und einer 0,603 proz. $As_2S_3$-Lösung (Tab. I, XIII) habe ich folgende Werte erhalten:

$$p = 0{,}03076; \quad V = 5{,}1019; \quad P = 5{,}1131; \quad P' = 5{,}0931;$$

woraus $d = 2{,}8752$.

Es ist bekannt, daß das spezifische Gewicht des amorphen Arsentrisulfids 2,76 beträgt.

Ich habe das Volumen eines Teilchens aus der auf obige Weise gefundenen Dichte $d$, aus der bekannten Konzentration, aus der Anzahl der mit Hilfe des Ultramikroskopes gezählten Teilchen berechnet und einen Durchmesser der Teilchen von ungefähr 8 $\mu\mu$ gefunden. Mit anderen Lö-

*) Angenommen $V$ und $P$ seien das Volumen und das Gewicht der Lösung; $p$ das Gewicht des kolloidalen Inhaltes; $p'$ das Gewicht des Lösungsmittels; $v$ das von den Teilchen eingenommene Volumen; $v'$ das vom Lösungsmittel eingenommene Volumen; $P'$ das Gewicht einer $V$ gleichen Lösungsmittelmenge, so haben wir

$$V = v + v' \qquad \text{(a)}$$
$$P = p + p' \qquad \text{(b)}$$

Ist $d'$ die Dichte des Lösungsmittels, so ist

$$d' = \frac{P'}{V} = \frac{p'}{v'}; \quad v' = \frac{p'}{d'} \quad \text{und zu (a)} \quad v = \frac{V - p'}{d'}. \qquad \text{(c)}$$

Ist $d$ die Dichte der kolloidalen Teilchen, so ist

$$d = \frac{p}{v} \quad \text{und zu (c)} \quad d = \frac{p}{V - \frac{p'}{d'}} = \frac{p}{V - \frac{V(P-p)}{P'}},$$

Die Endresultate nach dieser Formel stimmen mit denen nach der Formel Dumanskis[12])

$$A = B + C - \frac{c}{x}\delta,$$

in welcher $A$ = Masse der Lösung;
$B$ = Masse des Lösungsmittels;
$C$ = Masse des Kolloids;
$\delta$ = Dichte des Lösungsmittels;
$x$ = Dichte der Teilchen ist.

sungen habe ich Werte von 8—15 $\mu\mu$ gefunden. Die bei meinen Untersuchungen verwendeten Lösungen besitzen daher einen sehr hohen Dispersionsgrad (ungefähr an der Grenze zwischen Amikronen und Submikronen). Bei dieser Gelegenheit finde ich es zweckmäßig in Erinnerung zu bringen, daß das Hydrosol $As_2S_3$ mit sehr verschiedenen Charakteren, physikalischen Eigenschaften und Dispersionsgrad, erhalten und beschrieben wurde. Linder und Picton beschreiben 4 verschiedene Typen dieser Lösung, die sich nur durch die Größe ihrer Teilchen unterscheiden. In den Arbeiten Schwedbergs sind 3 Typen kolloidaler Lösungen erwähnt: Die $\alpha$-$\beta$-$\gamma$-Lösungen. Die letzte dieser Typen ($\gamma$) besitzt den höchsten Grad der Dispersion und ein beträchtliches Diffusionsvermögen. Ich selbst habe beobachten können, daß, auch in Lösungen gleicher Konzentration, die Teilchen verschiedene Größen aufweisen, je nach der Art der Bereitung des Kolloids, d. h. je nachdem Schwefelwasserstoff in die $As_2O_3$-Lösung durchgeleitet oder ihr eine gesättigte Schwefelwasserstofflösung zugefügt oder die $As_2O_3$-Lösung auf die Schwefelwasserstofflösung gegossen wurde.

Es ist wahrscheinlich, daß man mit Hydrosol $As_2S_3$ sowie mit anderen Kolloiden eine ganze Reihe von Lösungen verschiedenen Dispersionsgrades erhalten kann, die einerseits an die Suspensionen, anderseits an die echten Lösungen grenzen. Die in den hier angeführten Untersuchungen gebrauchten kolloidalen Lösungen besaßen, auch wegen der einförmigen Darstellungstechnik, einen konstanten Charakter oder so geringe Charakterunterschiede, daß man sie praktisch als konstant annehmen kann. Dieser Umstand ist wichtig, denn sicherlich kann einem sehr hohen Unterschied des Dispersionsgrades eines Kolloids eine verschiedene pharmakologische Wirkung entsprechen. So hat diesen Umstand Sabbatani[13]) für den kolloidalen Schwefel bewiesen; desgleichen hat Foa und Agazzotti für das Arsentrisulfid beobachtet und ähnliches haben andere Autoren für andere Kolloide berichtet. Es erscheint uns die Annahme logisch, daß der Dispersionsgrad eines Kolloids, solange es nach Einführung in den Organismus im Hydrosolzustande verbleibt, auch einen direkten Einfluß auf seine pharmakologische Wirkung ausüben kann. Die verschiedenen charakteristischen Eigenschaften dieses physikalischen Zustandes werden die Schnelligkeit der Diffusion, den Grad der Einwirkung auf die einzelnen Organe, die gleichmäßige Verteilung in ganz bestimmten Geweben, kurz dessen verschiedenartige Verteilung im Organismus beeinflussen können. Fernerhin wird der Dispersionsgrad in einem späteren Stadium auch indirekt seinen Einfluß auf dessen pharmakologische Wirkung ausüben können, insofern diesem Dispersionsgrad eine gesteigerte freie Diffusion, ein tieferes Eindringen bis in die histologischen Elemente, zu denen das Kolloid geringeren Dispersionsgrades nicht hätte gelangen können und infolgedessen eine verschieden große Ausdehnung der Berührungsoberfläche, eine verschiedene Schnelligkeit der Reaktionen und Modifikationen chemischer und chemisch-physikalischer Natur entsprechen. Es ist klar, daß, sobald das Kolloid aus dem Hydrosolzustande in den Hydrogelzustand und später, wie es bei den kolloidalen Sulfiden im allgemeinen der Fall ist, in den festen Zustand in Form amorpher Teilchen übergeht, jeglicher direkter Einfluß des Dispersionsgrades auf-

gehoben ist: Es verbleibt nur ein indirekter Einfluß, der von denjenigen histologischen Bezirken, in denen die physikalischen Zustandsveränderungen stattgefunden haben, von der Anzahl und der Größe der gebildeten und in den Geweben festgehaltenen festen Teilchen abhängig ist. Es erscheint uns offenbar, daß jeder Einfluß, sei er direkter, sei er indirekter Natur, um so geringer sein wird, je rascher der Übergang sein wird (wie es im Falle der Sulfide ist):

$$\underset{\text{kolloidale Dispersionsphase}}{\text{MS}} \longrightarrow \underset{\text{amorphe feste Phase}}{\text{MS}}$$

Wenn dieser physikalische Zustandswechsel sehr rasch vor sich gehen wird, so werden die kleinen Dispersionsgradunterschiede weder die direkte pharmakologische Wirkung dieser Substanz noch deren Nachwirkungen beeinflussen. Aus dem eben Gesagten folgt, wie wichtig es ist, um die pharmakologische Wirkung des Kolloids genau verstehen zu können, sein Verhalten den verschiedenen Fällungsmitteln gegenüber genau zu kennen. Es ist übrigens für die kolloidalen Sulfide im allgemeinen bekannt, daß deren lokale und allgemeine, sich auf den Organismus erstreckende pharmakologische Wirkung, nach geschehenem Übergang in den festen Teilchenzustand und nach deren Fixation in den Geweben wesentlich von der Löslichkeit des Sulfids, von dem Übergange in eine löslichere, mehr dissoziierte und pharmakologisch mehr aktivere Form abhängt. Daraus folgt die Wichtigkeit, die Löslichkeit, die Oxydationsmöglichkeit und die Möglichkeit sowohl des kolloidalen als auch des festen amorphen $As_2S_3$ in neue chemische Formen überzugehen, zu kennen. Aus diesem Grunde habe ich, ehe ich mich an das Tierexperiment wandte, zuerst einige Untersuchungen in vitro angestellt, um die Veränderungen des Aggregatzustandes, die Löslichkeit, die Oxydations- und Reduktionsprodukte des Arsentrisulfids kennenzulernen.

### c) Änderungen des Aggregatzustandes.

Es ist bekannt, daß das $As_2S_3$-Hydrosol unter Einwirkung der Elektrolyten rasch in den Hydrogelzustand übergeht: Es nimmt in diesem Zustande eine granuläre Struktur an. Sodann bildet es gelbe Koagula, die durch Adsorption einen Teil des ausfällenden Elektrolyten festbinden (Linder und Picton). Werden diese Koagula mit Wasser bei 100° gewaschen, so geben sie glasige, amorphe, rote Massen, die nicht mehr imstande sind, kolloidale Lösungen zu bilden. Die fällende Wirkung hängt hauptsächlich von den Kationen ab und man meint, daß die positive Ladung dieser Kationen die negative Ladung der kolloidalen Teilchen neutralisieren würde. Zahlreiche Substanzen in Pulverform wie Marmor, Glas, Kohle fällen das Kolloid aus. Mit Bariumsulfat behandelt, wird es rasch koaguliert und Vannino[14]) hielt diese Reaktion als spezifisch für das kolloidale $As_2S_3$, was durch Küster und Dahmer als unrichtig erwiesen wurde. Die von mir verwendeten Lösungen, mit Natriumcarbonat behandelt, gibt einen Niederschlag, der je nach der Konzentration der Lösung sich später schneller oder langsamer wieder auflöst. Fügt man der kolloidalen Lösung Ammoniak, Kali, Ammoniumcarbonat oder Ammoniumsulfid hinzu, so wird sie klar und farblos. Es bilden sich in diesen Fällen, wie es bekannterweise für das

amorphe Arsensulfid geschieht, Gemische von Sulfarsenit und Arsenit oder im Falle, daß Ammoniumsulfid gebraucht wurde, Sulfarsenit allein. Alle meine Lösungen bilden durch Hinzufügen nichtdialysierter Gelatine rasch einen reichlichen Niederschlag, langsamer durch Hinzufügen von Gummi arabicum. Durch Hinzufügen von Blutserum bilden sie rasch einen reichlichen gelben Niederschlag; langsamer und in geringerer Menge durch Hinzufügen von Eiweiß. Desgleichen bildet sich ein reichlicher Niederschlag durch Hinzufügen von Galle oder Infusionen verschiedener Organe.

### d) Löslichkeitsvermögen, Hydrolyse und Oxydationsvermögen.

Im allgemeinen wird das Arsentrisulfid für unlöslich gehalten, jedoch ist es unzweifelhaft, daß es in sehr geringem Maße löslich ist. Diesem Löslichkeitsvermögen des $As_2S_3$ muß man seine lokale Ätzwirkung zuschreiben: Denn wäre es ganz unlöslich, so müßte es auch ganz unwirksam sein. Das Löslichkeitsvermögen des $As_2S_3$ ist bekannt: Es ist höher als das anderer Sulfide wie z. B. das des Hg oder Bi. In der Tabelle II sind nach Weigel[15]) die Löslichkeitswerte einiger Sulfide der Schwermetalle, die pharmakologisch wenigstens teilweise schon untersucht worden sind, angeführt.

Tabelle II.

Löslichkeit der gefällten Sulfide.

| Substanz | Löslichkeit in Mol im Liter | Rotationsdauer Stunden |
|---|---|---|
| ZnS | $70{,}60 \cdot 10^{-6}$ | 12 |
| $Sb_2S_3$ | $5{,}20 \cdot 10^{-6}$ | 11 |
| PbS | $3{,}60 \cdot 10^{-6}$ | 5 |
| CuS | $3{,}51 \cdot 10^{-6}$ | 24 |
| $As_2S_3$ | $2{,}10 \cdot 10^{-6}$ | — |
| $BiS_3$ | $0{,}35 \cdot 10^{-6}$ | 11 |
| HgS | $0{,}054 \cdot 10^{-6}$ | $^1/_2$ |

Die Löslichkeit wird sich sicherlich bei Säugetiertemperatur größer erweisen.

Das spezifische elektrische Leitungsvermögen der gesättigten Lösung ist nach Weigel $3{,}263 \cdot 10^{-6}$. Über die Gleichgewichtsreaktion, die bei der Hydrolyse auftritt, ist schon früher gesprochen worden. Es ist bekannt, daß das feste amorphe Arsensulfid leicht oxydierbar ist; daß die Oxydation des Arsensulfids im kolloidalen Zustande, infolge der großen Oberflächenausdehnung, viel rascher vor sich gehen muß, ist begreiflich. Leitet man in eine meiner Lösungen Luft, bei Zimmertemperatur 15° C, ein, so nimmt die Lösung langsam eine hellere gelbe Farbe an. Nach 3—4 Tagen habe ich das Sulfid mit HCl zur Fällung gebracht und sodann filtriert. In dem Filtrat ließ ich $H_2S$ einleiten und bekam einen reichlichen Niederschlag von $As_2S_3$. Bei dieser Behandlungsweise muß man die Bildung von $As_2O_3$, außer der Oxydation durch den Sauerstoff der Luft auch der fortwährenden

Elimination von $H_2S$, die mechanisch zustande kommt, zuschreiben. Für die Löslichkeit des Arsensulfids und für die Hydrolyse der flüssigen Phase, welche Hydrolyse spärlich auftritt, jedoch nicht außer acht gelassen werden darf, wird man in den Lösungen zwischen den folgenden Phasen ein komplexes Gleichgewicht beobachten:

$$\underset{\text{kolloidale Dispersionsphase}}{As_2S_3} \rightleftarrows \underset{\text{gelöste flüssige Phase}}{As_2S_3} \qquad \underset{\text{hydrolytische Reaktion der flüssigen Phase}}{As_2S_3 + 3\,H_2O \rightleftarrows As_2O_3 + 3\,H_2S}$$

Die rasche Elimination des Schwefelwasserstoffes bewirkt natürlicherweise eine dauernde Gleichgewichtsverschiebung nach rechts.

Ganz besonderes Interesse bietet das Verhalten der kolloidalen Arsentrisulfidlösungen einigen Oxydationsstoffen gegenüber, insbesondere dem Wasserstoffsuperoxyd gegenüber.

Ich fügte 70 ccm einer 0,0603 proz. $As_2S_3$-Lösung, 30 ccm reinsten 3,6 proz. $H_2O_2$ hinzu und sah, daß die kolloidale Lösung für einige Zeit sich klar und gelb erhielt. Bei Zimmertemperatur (15° C) und in geschlossenem Gefäße bemerkte ich nach ungefähr 2 Stunden eine stufenweise fortschreitende Trübung, während die gelbe Farbe eine immer mehr weißlichere Farbe annahm und schließlich ganz weiß wurde. Wurde jetzt die Flüssigkeit zentrifugiert, so erhielt ich keinen oder nur einen sehr spärlichen Niederschlag. Am Mikroskop, bei den stärksten Vergrößerungen, sah ich ganz kleine Teilchen von einem Durchmesser von ungefähr 0,1—0,2 $\mu$, die lebhafte Brownsche Bewegungen zeigten. Nachträglich bildete sich ein feiner weißer Niederschlag, der sich nur sehr langsam am Boden absetzte, so daß sich erst nach 2 Tagen ungefähr die Flüssigkeit im oberen Teile des Gefäßes klar und farblos zeigte. Dieser Niederschlag, am Mikroskop beobachtet, wies feinste Granula auf: Diese Granula erschienen auf hellem Felde schwarz, auf dunklem Felde hellgelb und glänzend. Bei Verbrennung des Niederschlages entwickelte sich $SO_2$. Dieser Niederschlag ist in $CS_2$ löslich, in Ammoniak unlöslich. Es handelt sich offenbar um Schwefel, welcher durch das Auftreten der typischen Krystalle bewiesen wird, die erhalten werden, wenn man die Lösungen dieses Niederschlages in $CS_2$ eindampfen läßt.

Nicht der ganze Schwefel jedoch bleibt in dieser Form erhalten: Denn, wird die klare farblose Flüssigkeit oberhalb des Niederschlages mit Bariumchlorid, das durch HCl angesäuert wurde, behandelt, so erhält man einen spärlichen weißen Niederschlag: Ein Beweis, daß ein Teil des Schwefels in Schwefelsäure umgewandelt wird. Die filtrierte obenerwähnte Flüssigkeit zeigt ferner folgende Reaktionen: a) Mit Silberammoniumnitrat gibt sie einen schokoladenbraunen Niederschlag, der in Ammoniak und $HNO_3$ löslich ist; b) angesäuert und mit $H_2S$ behandelt, weist sie nicht die gelbe Färbung auf.

Aus diesen obenerwähnten Reaktionen ergibt sich, daß durch Hinzufügen von Wasserstoffsuperoxyd an das Hydrosol Arsentrisulfid folgende Produkte entstehen: 1. Amorpher granulierter Schwefel in Form einer ganz feinen Suspension (vielleicht auch kolloidaler Schwefel) zuerst, und dann in Form eines Niederschlages; 2. Spuren von Schwefelsäure und 3. Arsensäure.

Es ist möglich, daß die Reaktion folgendermaßen vor sich geht:

$$As_2S_3 + 5\,H_2O_2 = As_2O_5 + 3\,S + 5\,H_2O$$

oder aber, was wahrscheinlicher ist, dadurch, daß im Sinne folgender Gleichgewichtsformel:

$$As_2S_3 + 3\,H_2O \rightleftarrows As_2O_3 + 3\,H_2S,$$

welches Gleichgewicht von der hydrolytischen Reaktion der gelösten Phase bedingt wird, das oxydierende Moment auf die Produkte der Hydrolyse wirkt und infolge des Überganges von Arsenigsäure in Arsensäure und von Schwefelwasserstoff zu Schwefel eine dauernde Verschiebung nach rechts entsteht:

$$As_2O_3 + 3\,H_2S + 5\,H_2O_2 \longrightarrow As_2O_5 + 3\,S + 5\,H_2O\,.$$

Viel langsamer geht die Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure vor sich*). Wenn die Menge des zugefügten $H_2O_2$ gering ist, so erleidet nur ein Teil Arsentrisulfids die beschriebenen Veränderungen; der übrige Teil schlägt sich langsam als amorphes $As_2S_3$ nieder. — Auch das amorphe $As_2S_3$ reagiert, mit $H_2O_2$ behandelt, in ähnlicher Weise. Wird das Arsentrisulfid aus den kolloidalen Lösungen zur Fällung gebracht, sodann das

*) Foa und Agazzotti, nach der obenerwähnten Arbeit, fügen zu 50 ccm $H_2O_2$ zu 0,5%, 0,5 ccm einer kolloidalen Lösung von $As_2S_3$ hinzu, und finden, daß die Konzentration des $H_2O_2$ eine progressive Abnahme erleidet, die sie der katalytischen Wirkung des Kolloids zuschreiben. Die Geschwindigkeit der Reaktion bestimmen sie nach der für die monomolekularen Reaktionen gebrauchten Formel:

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x},$$

wobei $K$ einen Wert von 0,3 für das gelbe $As_2S_3$, von 0,5 für das rote $As_2S_3$ hätte. (Diese beiden Varietäten entsprechen den verschiedenen Größen der kolloidalen Teilchen, die bei der gelben Varietät im Ultramikroskop sichtbar, bei der roten hingegen unsichtbar sind.)

Es ist klar, daß in diesem Falle von einer katalytischen Wirkung nicht die Rede sein kann, weil das $As_2S_3$, in der oben dargelegten Weise, mit $H_2O_2$ oxydiert. Daher darf auch die obenerwähnte Formel nicht angewendet werden, die zwar für die Berechnung der Zersetzung des $H_2O_2$ durch andere Kolloide (z. B. Platin) richtig ist, aber nicht durch Arsensulfid. In diesem Falle erscheint die Reaktion viel komplizierter. Nehmen wir an, daß das $H_2O_2$ direkt mit dem Arsentrisulfid in Reaktion trete, so ergibt sich eine Reaktion von 6 Molekülen; wenn wir annehmen, daß das $H_2O_2$ mit den Produkten der Hydrolyse in Reaktion trete, so ergibt sich eine Reaktion von 9 Molekülen. Überdies findet eine viel langsamere Oxydation des Schwefels zu Schwefelsäure nachträglich statt. Es handelt sich somit um einen komplizierten Fall sich nachfolgender Reaktionen. Daß die obenerwähnten Autoren verschiedene Werte für $K$ bei den 2 $As_2S_3$-Varietäten gefunden haben, ist leicht verständlich, wenn man sich die verschiedene Größe der Teilchen, die verschieden große Oberflächenausdehnung, die verschiedene Oxydationsgeschwindigkeit vor Augen hält.

erhaltene feine gelbe Pulver in Wasser suspendiert und fügt man nun $H_2O_2$ hinzu, so erhält man Schwefel, Arsensäure und Schwefelsäure in geringen Spuren. Der einzige Unterschied in den beiden Reaktionen, deren Ursache bekannt ist, zeigt sich in der Schnelligkeit der Reaktion, die viel langsamer vor sich geht als die oben beschriebene. Ich bringe in Erinnerung, daß schon seit langer Zeit Zambelli und Luzzatto[16]) in ihren toxikologischen Untersuchungen das Wasserstoffsuperoxyd zur Trennung des Antimon vom Arsen verwendet haben. Sie oxydierten das Arsensulfid vollkommen zu Schwefelsäure und Arsensäure durch Hinzufügen von Wasserstoffsuperoxyd und nachträgliches graduelles Sieden. Von einem Schwefelniederschlag erwähnen sie nichts. Es ist aber klar, daß bei jenen Experimenten der Schwefel ganz und rasch in Schwefelsäure übergeführt wird, während er in meinen Untersuchungen in außerordentlicher Langsamkeit oxydiert wird.

Aus dem bisher Gesagten kann man den Schluß ziehen, daß, wenn das $As_2S_3$ in einem Prozesse zur Oxydation gelangt, das Arsen rasch ad maximum oxydiert wird (Arsensäure), sobald der Schwefel frei wird, und dieser wird erst später bei Überschuß von Oxydationsmitteln oxydiert.

Diese verschiedene Oxydationsgeschwindigkeit zeigt sich außer mit Wasserstoffsuperoxyd auch mit anderen Reagentien. Es ist bekannt (Dumanski), daß das kolloidale Arsensulfid mit einer Jodlösung behandelt, Schwefel und Arsensäure bildet:

$$As_2S_3 + 10\,J + 5\,H_2O = As_2O_5 + 3\,S + 10\,HJ\,.$$

Das bis hierher Dargelegte, insbesondere die leichte Fällungsmöglichkeit der kolloidalen $As_2S_3$-Lösungen den Elektrolyten, den Kolloiden, den Fremdkörpern gegenüber, die Löslichkeit des Arsentrisulfids, die hydrolytische Reaktion der gelösten Phase, die Art und Leichtigkeit der Oxydation, die Reaktionen mit verschiedenen Verbindungen und insbesondere mit den Alkalisulfiden, und endlich die leichte Überführung in löslichere und dissoziierbare Komponenten sind für uns von ganz besonderer Wichtigkeit, um die pharmakologische Wirkung in jeder Hinsicht zu verstehen.

Auf diese Tatsachen werde ich mich bei der Besprechung der Tierexperimente, auf die ich ohne weiteres übergehe, stützen.

## III. Versuche mit intravenösen Injektionen.

Die Versuche wurden an Kaninchen, Hunden und Meerschweinchen angestellt. Da die Ergebnisse dieser Untersuchungen in allen diesen drei Tiergattungen die gleichen waren, so führe ich nur diejenigen an, die ich an Kaninchen angestellt habe, da ich sie auch an diesen Tieren am zahlreichsten angestellt habe. Die

intravenösen Injektionen wurden bei 21 Kaninchen gemacht, wobei immer Lösungen verwendet wurden, die am gleichen Tage oder ein paar Tage vorher hergestellt worden waren (vgl. Tab. I u. III).

Injiziert wurde in die Vena marginalis sinistra des Ohres mittels einer graduierten Bürette, die mit einem eingeschliffenen Hahn und einem daran fest anschließenden Gummischlauch versehen war, der mit einer spitzen Nadel endigte. Bei jedem Versuche wurde die Einspritzungsgeschwindigkeit genau eingehalten: Sie wurde mittels Chronometer gemessen. Die Versuche sind in der Tabelle III kurzgefaßt dargestellt. In der Kolonne n dieser Tabelle wurde die As-Dose in Gramm pro kg Körpergewicht aufgezeichnet, und dies, um die Versuche mit $As_2S_3$ mit den mit anderen As-Verbindungen angestellten Versuchen vergleichen zu können, von denen ich später sprechen werde. Die Daten aus den Kolonnen n—o dieser Tabelle habe ich graphisch dargestellt, wobei auf der Abscisse die As-Dose (in $g \cdot 10^4$ pro kg Körpergewicht) auf der Koordinate die Zeit, die die Tiere die Injektion überlebten, in Minuten aufgezeichnet sind. In dieser Kurve sind die Versuche 13—21 dargestellt. Die ersten 12 Versuche, in denen ganz geringe Mengen $As_2S_3$ injiziert wurden, sind nicht aufgezeichnet, einerseits weil einige Tiere den Eingriff überlebten, andererseits, weil der Eingriff für andere Tiere so bedeutend war, daß es unmöglich war, ein Verhältnis zu bestimmen zwischen Überlebungszeit und injizierter Dosis.

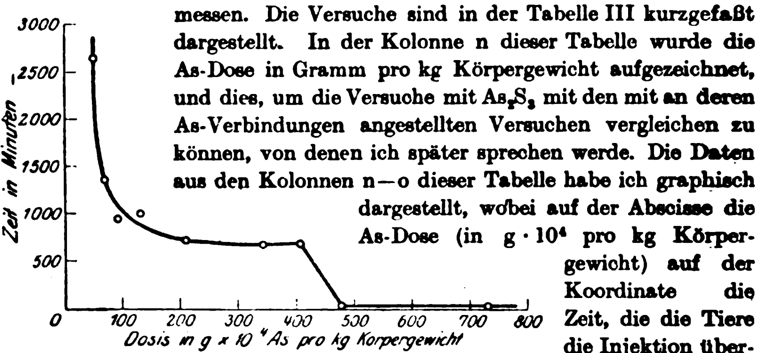


Abb. 1.

Aus der Tabelle und der graphischen Darstellung ergibt sich, daß die Tiere die Injektionen von geringeren Mengen als 0,0051 g $As_2S_3$ pro kg Körpergewicht überleben *) und dazu noch an Körpergewicht zunehmen. Mit größeren Mengen, von 0,0051—0,007 g pro kg Körpergewicht, zeigen die Tiere innere Vergiftungserscheinungen, manchmal sterben sie, manchmal erholen sie sich und überleben. Wird die $As_2S_3$-Menge noch erhöht, so erfolgt immer der Tod; zuerst in sehr verschiedenen Zeiträumen, dann bei 0,0089 g übersteigenden Mengen, in kürzeren Zeiträumen, die um so kleiner sind, je höher die Dosis gehalten wird, so daß es möglich wurde, diese Versuche graphisch darzustellen. Bei einem gewissen Punkte zeigt diese Kurve

*) Das Kaninchen im Versuche 4 stirbt mit einer Dose von 0,0044 g, zeigt aber nicht die Vergiftungserscheinungen, die später beschrieben sind; auch bei höheren Dosen (Versuch 5) überleben die Tiere und nehmen zu. Es erscheint daher sehr zweifelhaft, ob der Tod der injizierten Substanz oder, was wahrscheinlicher ist, einem neuen noch nicht bestimmten Faktor zuzuschreiben ist.

**Tabelle III.**

Intravenöse Injektionen mit kolloidalem $As_2S_3$ bei Kaninchen.

| Versuchs-Nr. | Datum | Kaninchen, Körpergewicht | Injizierte $As_2S_3$-Lösung: Nr. | Alter der Lösung in Tagen | % | Menge ccm | Dauer der Injektion in Minuten | Injizierte $As_2S_3$: g | g pro kg Körpergewicht | pro kg und Minute | Injiziertes As in g pro kg Gewicht | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | b | c | d | e | f | g | h | i | l | m | n | c. |
| 1 | 7. V. 1920 | 1,350 | XI A | 1 | 0,058 | 1,9 | — | 0,0011 | 0,0008 | — | 0,0005 | Lebt und nimmt zu.. |
| 2 | 6. V. 1920 | 1,350 | XI | 0 | 0,580 | 0,7 | — | 0,0040 | 0,0030 | — | 0,0018 | „ „ „ „. |
| 3 | 8. XI. 1914 | 1,470 | IV A | 1 | 0,297 | 2,0 | — | 0,0059 | 0,0040 | — | 0,0024 | „ „ „ „. |
| 4 | 29. X. 1914 | 1,500 | III | 1 | 0,604 | 1,1 | — | 0,0066 | 0,0044 | — | 0,0026 | Stirbt nach 7 Tagen bei kg 1 · 300 Körpergewicht. |
| 5 | 8. VI. 1914 | 1,000 | II | 2 | 0,604 | 0,8 | — | 0,0048 | 0,0048 | — | 0,0029 | Lebt und nimmt zu. |
| 6 | 29. X. 1914 | 1,540 | III | 1 | 0,604 | 1,3 | — | 0,0079 | 0,0051 | — | 0,0031 | Stirbt nach 4—5 Tagen. |
| 7 | 6. V. 1920 | 1,250 | XI | 0 | 0,580 | 1,2 | — | 0,0069 | 0,0056 | — | 0,0034 | Weist Beschwerden auf, nimmt ab, zuletzt erholt es sich |
| 8 | 29. X. 1914 | 1,350 | III | 1 | 0,604 | 1,4 | — | 0,0085 | 0,0062 | — | 0,0037 | Stirbt nach 26½ Tagen. |
| 9 | 6. V. 1914 | 1,850 | XI | 0 | 0,580 | 2,0 | — | 0,0116 | 0,0070 | — | 0,0042 | Wie Nr. 7. |
| 10 | 29. X. 1914 | 1,520 | III | 1 | 0,604 | 2,0 | — | 0,0121 | 0,0079 | — | 0,00481 | Stirbt nach 8—9 Tagen. |
| 11 | 29. X. 1914 | 1,500 | III | 1 | 0,604 | 2,0 | — | 0,0121 | 0,0080 | — | 0,00487 | „ „ 44 Stunden. |
| 12 | 29. X. 1914 | 1,420 | III | 1 | 0,604 | 2,1 | — | 0,0127 | 0,0089 | — | 0,0054 | „ „ 7—8 Tagen. |
| 13 | 8. VI. 1914 | 0,870 | II | 2 | 0,604 | 1,4 | 0′ 15″ | 0,0084 | 0,0097 | 0,0389 | 0,0059 | „ „ 43½ Stunden. |
| 14 | 21. V. 1920 | 1,560 | XII | 1 | 0,600 | 3,2 | 1′ | 0,0192 | 0,0127 | 0,0127 | 0,0075 | „ „ 22—23 Stunden. |
| 15 | 8. VI. 1914 | 0,650 | II | 2 | 0,604 | 1,6 | 0′ 19″ | 0,0097 | 0,0149 | 0,0480 | 0,0090 | „ „ 16 Stunden. |
| 16 | 6. VI. 1914 | 1,370 | I | 0 | 0,603 | 5,0 | 1′ 1″ | 0,0301 | 0,0220 | 0,0220 | 0,0135 | „ „ 16½ Stunden. |
| 17 | 21. V. 1920 | 1,480 | XII | 1 | 0,600 | 8,8 | 2′ | 0,0532 | 0,0361 | 0,0180 | 0,0220 | „ „ 13 Stunden. |
| 18 | 6. VI. 1914 | 1,070 | I | 0 | 0,603 | 10,0 | 2′ 28″ | 0,0603 | 0,0563 | 0,0235 | 0,0342 | „ „ ungefähr 12 Stunden. |
| 19 | 6. VI. 1914 | 1,350 | I | 0 | 0,603 | 15,0 | 4′ 28″ | 0,0904 | 0,0670 | 0,0152 | 0,0408 | „ „ „ „ „ |
| 20 | 8. XI. 1914 | 1,200 | IV | 1 | 0,594 | 17,0 | 5′ 39″ | 0,1010 | 0,0837 | 0,0149 | 0,0484 | „ am Ende der Injektion. |
| 21 | 6. VI. 1914 | 1,250 | I | 0 | 0,603 | 25,0 | 5′ 57″ | 0,1507 | 0,1206 | 0,0204 | 0,0734 | „ „ „ „ „ . |

eine schroffe Abweichung, sie nähert sich sehr der Abscisse, was uns beweist, daß bei 0,07 g $As_2S_3$ übersteigenden Dosen, vielleicht infolge Auftretens eines neuen Vergiftungsfaktors, die Überlebungszeit ganz gering ist.

Zur bequemeren und besseren Schilderung der Symptome und der makroskopischen und mikroskopischen pathologisch-anatomischen Veränderungen habe ich die Kaninchen, die Vergiftungserscheinungen zeigten, in drei Gruppen eingeteilt: 1. jene, die einige Tage lebten oder überhaupt den Eingriff überlebten; 2. jene, die 12—43 Stunden überlebten und 3. jene, die sofort nach dem Eingriff starben.

1. Kaninchen, die einige Tage am Leben blieben oder überhaupt den Eingriff überlebten.

Symptomatologie: Nach der Injektion wurde gar keine Veränderung verzeichnet; nach 8—10 Stunden begann eine schwere Form von Diarrhöe. Die Urinmengen waren gering, wurden eiweißhaltig und hämorrhagisch. Ein Zustand schwerer Depression tritt auf; das Tier frißt nicht mehr und nimmt an Gewicht ab. Nicht immer bleiben bis zum Tode die Faeces flüssig: bei den längere Zeit überlebenden Tieren erscheinen sie wieder in fester Form.

Anatomisch-pathologische Veränderungen: Die Nieren sind vergrößert, erweisen sich hyperämisch in der Marksubstanz, etwas verblaßt in der Rindensubstanz. Die Leber ist blaß an den Rändern, manchmal (Versuch 6) hat sie das Aussehen einer Muskatnußleber. Die Milz ist groß und schwarz. Der Magen ist hämorrhagisch in der Pylorusgegend. Der Dünndarm zeigt punktförmige Hämorrhagien, insbesondere im Leerdarme. Die Lunge zeigt manche kleine umschriebene verdickte Stellen mit brauner Pigmentation.

Histologisch untersucht bemerkt man:

a) In den Nieren: Starke Veränderungen, Schwellung der Glomerula, Desquamation des Kapselepithels, fette Degeneration oder trübe Schwellung der Epithelien der Tubuli und der Henleschen Schleifen, leichte Lymphocyteninfiltration und hämorrhagische Ergüsse in der Corticalsubstanz.

b) In der Leber: Trübe Schwellung, kleine perilobuläre Blutergüsse.

c) Im Magen und Darm: Submuköses Ödem, erweiterte Capillaren, zahlreiche Hämorrhagien in der Pylorusgegend und im Leerdarme.

d) Wenige kleine Blutergüsse am Herzen unterhalb des Epikardiums.

Kurz, an diesen Kaninchen beobachtet man degenerative und entzündliche Veränderungen an den Nieren, an der Leber und am Magendarmtraktus.

2. Kaninchen, die 12—43 Stunden den Eingriff überlebten.

Symptomatologie: Keine unmittelbaren Symptome. Nach ungefähr 2—3—4 Stunden nach der Injektion beobachtet man eine unregelmäßige Atmung mit gesteigerter Frequenz und verminderter Tiefe der einzelnen

Atemzüge. Diese Unregelmäßigkeit bleibt mehr oder weniger bis zum Tode erhalten, welcher, sobald sich andere Symptome wie Diarrhöe, Verminderung der Zahl und der Stärke der Herzschläge usw. zeigen, eintritt.

Anatomisch-pathologische Veränderungen: Diese sind den früher beschriebenen ähnlich. Die degenerativen Erscheinungen sind weniger offenbar, während die Veränderungen der Gefäße besonders an der Niere und an der Leber in den Vordergrund treten. Bei Steigerung der Dosis und bei Verkürzung der Überlebungszeit nehmen die Schädigungen an der Lunge immer mehr zu und zuletzt sind sie die vorherrschenden Erscheinungen des gesamten anatomisch-pathologischen Bildes. Bei der Sektion erscheinen die Lungen hyperämisch, weisen scharf umschriebene, rundliche, luftleere, dunkelrote Zonen auf, die besonders an den Rändern und an den Fissurae interlobares zahlreich sind, von verschiedener Größe, manchmal von nur wenigen Millimetern Durchmesser, manchmal aber bedeutend ausgedehnter, so daß sie fast einen ganzen Leberlappen einnehmen. Bei den Kaninchen, die wenige Stunden den Eingriff überleben, besitzt das Lungenparenchym eine mehr oder weniger ausgesprochene gelbe Farbe.

Die histologische Untersuchung zeigt die charakteristischen Erscheinungen des hämorrhagischen Lungeninfarktes. Außerdem trifft man in der Lunge gelbe $As_2S_3$-Granula in größerer oder geringerer Menge, je nach der Überlebungsdauer.

### 3. Kaninchen, die gleich nach der Injektion starben.

Symptomatologie: Schon gegen Ende der Injektion treten bei diesen Kaninchen Dyspnöe, Sinken der Respirationsfähigkeit, Konvulsionen auf, und nach wenigen Minuten erliegen sie.

Anatomisch-pathologische Veränderungen: Die Lunge zeigt eine einheitliche gelbe Farbe, kleine punktförmige Hämorrhagien an der Oberfläche; sonst nichts Bemerkenswertes. Bei der histologischen Untersuchung trifft man zahlreiche gelbe $As_2S_3$-Granula in den Lungengefäßen.

## IV. Histologische und mikrochemische Untersuchungen.

Die Tatsache, daß die Anwesenheit von $As_2S_3$ fast ausschließlich in der Lunge zu verzeichnen ist, ferner die Art und die Wichtigkeit der Veränderungen an den Lungen haben mich veranlaßt, eine ganze Reihe histologischer Untersuchungen an mit kolloidalem $As_2S_3$ behandelten Kaninchen, die nach Belieben getötet wurden, zu unternehmen; so daß es mir möglich wurde, den Gang der pathologischen Erscheinungen, das Erscheinen und die darauffolgenden Veränderungen der $As_2S_3$-Granula kennenzulernen und dies mit einer Genauigkeit und Reinheit, wie man sie bei Tieren, die infolge der Injektion gestorben sind, nicht beobachten kann. Denn bei diesen letzteren werden die toxischen Erscheinungen und die Veränderungen des Arzneimittels nicht in den verschiedenen sich folgenden Stadien, sondern nur als Schlußerscheinungen beobachtet. Die injizierten Mengen in diesen Untersuchungen waren nicht immer die gleichen; denn hätte man immer eine starke Dosis injiziert, so hätte man infolge des frühzeitigen Todes nicht lange Zeit genug, die Beobachtung fortführen zu können. Die injizierten

## Tabelle IV.

| Nr. | Körpergewicht des Tieres | Injizierte $As_2S_3$-Lösung: Nr. zu Tab. I. | Injizierte $As_2S_3$-Lösung: Alter d. Lösung in Tagen | Injizierte $As_2S_3$-Lösung: % | Injizierte $As_2S_3$-Lösung: ccm | Injiziertes $As_2S_3$: Menge in g | Injiziertes $As_2S_3$: g pro kg | Injiziertes as pro kg Körpergewicht | Das Tier wird getötet nach | Befund bei der Autopsie |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | b | c | d | e | f | g | h | i | l | m |
| 22 | 1,560 | XII | 1 | 0,600 | 8,2 | 0,0192 | 0,0127 | 0,0075 | gleich nach der Injektion | **Hyperämische Lungen von einer intensiven und gleichmäßigen Gelbfärbung.** |
| 23 | 1,750 | IX | 0 | 0,570 | 7,5 | 0,0427 | 0,0289 | 0,0176 | nach 10 Minuten | **Kleine, punktförmige, oberflächliche Hämorrhagien in der Lunge; intensive Gelbfärbung.** |
| 24 | 1,900 | IX A | 1 | 0,057 | 1,7 | 0,0009 | 0,0006 | 0,0003 | nach 8 Stunden | **An den Lungenrändern, besonders der unteren Lappen, einige runde, stark hyperämische Stellen.** |
| 25 | 1,400 | IX | 0 | 0,570 | 10 | 0,0570 | 0,0407 | 0,0248 | nach 6 Stunden | Auf der ganzen Lungenoberfläche zahlreiche erhobene dunkelrote, runde Stellen. Durch Zusammenfließen dieser Stellen ist der rechte untere Lappen vollkommen hepatisiert. An den Rändern gelbliches Lungenparenchym. — Magen- und Dünndarm- (besonders Jejunum-) Schleimhaut rötlich gefärbt. |
| 26 | 1,070 | XII | 2 | 0,600 | 10 | 0,0600 | 0,0560 | 0,0336 | nach 16 Stunden | Lungen mit ausgedehnten Flecken, an einzelnen Stellen hepatisiert. Lunge wurde geschnitten, ausgedrückt und gewaschen, um sie vom Blute zu befreien; weist eine leichte Gelbfärbung auf. Magenschleimhaut mit rotgefärbten Flecken und punktförmige Hämorrhagien in der Pylorusgegend. Dünndarm mit flüssigen Kot gefüllt. |
| 27 | 1,000 | XII | 1 | 0,600 | 10 | 0,0600 | 0,0600 | 0,0360 | nach 24 Stunden | Befund wie oben (Nr. 26). — Grüngefärbter Urin, in dem Hämoglobin mittels Spektroskop nachweisbar ist. |
| 28 | 2,350 | IX | 2 | 0,570 | 4,5 | 0,0256 | 0,0108 | 0,0065 | nach 43 Stunden | Dunkelrote nicht sehr ausgedehnte Flecken an der Lungenoberfläche. Lunge geschnitten und gewaschen. Keine Gelbfärbung. Verdickte Leber mit blauen Rändern. Verdickte Nieren mit hyperämischer Medullarsubstanz; punktförmige Hämorrhagien am Pylorus und Jejunum; grüngefärbter Urin mit Hämoglobingehalt. |
| 29 | 1,720 | IX B | 2 | 0,114 | 10 | 0,0114 | 0,0066 | 0,0039 | nach 168 Stunden | Kleine braungefärbte nicht erhobene Flecken an den unteren Lungenlappen. – Keine hyperämische Lungen. — Leber und Niere blaß. |
| 30 | 1,900 | IX | 3 | 0,114 | 8,3 | 0,0095 | 0,0050 | 0,0030 | nach 503 Stunden | Einige verdickte und braun pigmentierte Stellen an der Lungenoberfläche. — Nichts Bemerkenswertes. |

Mengen entsprechen deshalb denen bei den Kaninchen der Gruppe a) und b) gebrauchten.

In der Tabelle IV sind die Daten und die Ergebnisse der Sektionen der 9 Untersuchungen angeführt.

Die gelbe Färbung der Lunge wie sie bei der Sektion der Kaninchen sowie aus den Untersuchungen 22, 23, 25 und 26 sichtbar ist, ist von der Fixation des festen amorphen $As_2S_3$ bedingt. Man beobachtet nämlich bei der histologischen Untersuchung des Lungengewebes dieser Kaninchen und auch in denen der Versuche 24—29 ganz kleine gelbe Massen, die die kleinsten Lungencapillaren ausfüllen. Wegen der Durchsichtigkeit dieser Massen ist die Untersuchung bei wenig geöffnetem Diaphragma angezeigt.

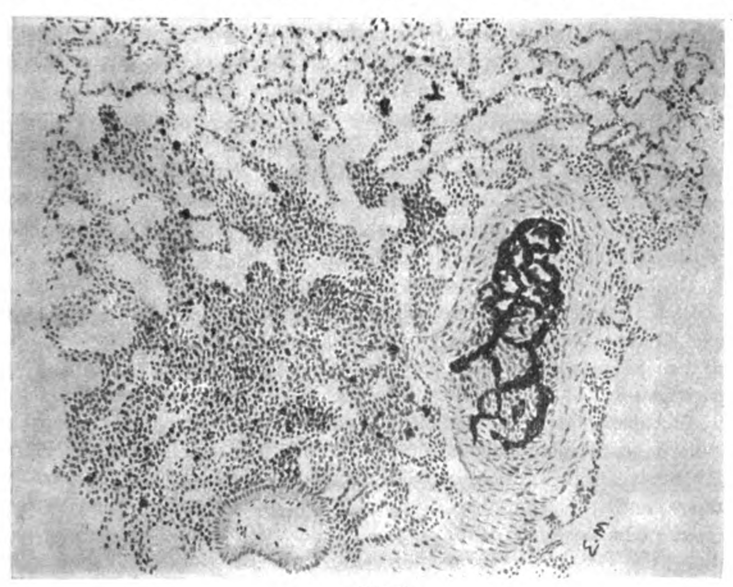


Abb. 2.

Ferner erlaubt uns die Untersuchung mit dem parabolischen Kondensator auch die kleinsten Teilchen in Form kleinster gelber, sehr glänzender Massen zu beobachten. Mit diesem Hilfsmittel ist es mir leicht gewesen, das $As_2S_3$ in dem Lungengewebe zu erkennen, auch in den Kaninchen der Versuche 24—29, in denen die Teilchen sehr klein und nicht zahlreich sind.

Werden die Schnitte mit Kaliumhydroxyd oder Ammoniak behandelt, so verschwinden die gelben Teilchen, eine Reaktion, die die Anwesenheit von $As_2S_3$ bestätigt.

Wie vorhergesagt, die Teilchen befinden sich in den Capillaren und verschließen dieselben gewöhnlich vollkommen. Manchmal befinden sie sich in den kleinen Arterien, selten in den größeren. In diesen letztgenannten Fällen (siehe Abbildung) lagert sich das $As_2S_3$ an den Gefäßwänden in Haufen

ab und in der Mitte der Gefäße befinden sich mehr oder weniger veränderte weiße Blutkörperchen.

Das bisher Gesagte gilt im allgemeinen von allen Versuchen, in denen das Vorhandensein des $As_2S_3$ in den Lungen bestätigt wird; jedoch gibt es einige Unterschiede in den einzelnen Untersuchungen betreffs der verschiedenen chemischen Veränderungen des $As_2S_3$, ferner betreffs des Auftretens und der Entwicklung der verschiedenen histologischen Veränderungen im Lungengewebe, die von der Verschiedenheit der injizierten Menge und von der Zeit, die nach der Injektion verflossen ist, abhängen.

In dem Versuch 22 (gleich nach der Injektion) sind die Massen sehr zahlreich. Eine Reaktion von seiten des Gewebes ist nicht zu beobachten. Es ist nur eine Dilatation und Füllung der Gefäße zu erkennen. Im Versuch 23 (10 Minuten nach der Injektion) ist die Dilatation der Blutcapillaren eine ganz erhebliche. In Versuch 24 (3 Stunden nach der Injektion) ist das Auftreten der Teilchen im Lungengewebe nur sehr gering, es zeigt sich nur an einigen Stellen hyperämisch. Die Anwesenheit der Veränderungen und das spärliche Auftreten der $As_2S_3$-Teilchen sind auf die kleinen verwendeten Mengen $As_2S_3$ zurückzuführen. Nach 6 Stunden (Versuch 25) trifft man die Veränderungen des Lungengewebes in ihrer vollsten Entwicklung (siehe Abbildung).

Zahlreiche Capillaren zeigen sich durch die $As_2S_3$-Massen verstopft. In Fällen, in denen ein größeres Blutgefäß verstopft wurde, kann man zahlreiche Leukocyten sehen, die in die $As_2S_3$-Massen eingedrungen sind. In dem benachbarten Gewebe bildet sich ein hämorrhagischer Infarkt: Das Lungengewebe ist durch Blut infiltriert, in den Alveolen sind zahlreiche rote Blutkörperchen mit spärlichen Leukocyten zu sehen und in manchen Capillaren kann man mittels der Weigertschen Methode hyaline, Fibrin enthaltende Thromben beweisen. In manchen Alveolen ist das Blut koaguliert und enthält Fibrinfäden. In jenen Teilen des Lungengewebes, die vom Infarkt nicht betroffen sind, ist eine außerordentliche Erweiterung und Füllung der Gefäße zu beobachten. Nach 16—24 Stunden (Versuche 26 bis 27, 0,056—0,060 g $As_2S_3$ pro kg Körpergewicht) trifft man in der Gegend des Infarktes Zerfallsprodukte der roten Blutkörperchen, Phagocyten, die rote Blutkörperchen oder Pigment einverleibt haben, zahlreiche Alveolen mit Blutcoagula gefüllt an. In vielen Capillaren sind immer die gewöhnlichen kleinen gelben Massen zu beobachten. Überdies bemerkt man an diesen Massen angelagert, je nach den Stellen, mehr oder weniger zahlreiche, ganz kleine, runde Granulationen, die bei offenem Diaphragma als schwarze Punkte, bei halbgeschlossenem oder noch besser mit parabolischem Kondensator betrachtet, sehr glänzend hellgelb erscheinen. Sie sind fast immer extracellulär. Werden die Schnitte mit Ammoniak behandelt, so bleiben diese kleinen Granula bestehen, sie verschwinden hingegen nach längerer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff.

Infolge dieser mikroskopisch-chemischen Reaktionen und des Aussehens der Teilchen, das mit dem der kleinen Teilchen des amorphen Schwefels, die sich aus dem $As_2S_3$ durch Einwirkung von $H_2O_2$ oder aus dem Schwefel-

wasserstoffwasser durch Fällung des Schwefels bilden, identisch ist, scheint uns die Folgerung gerechtfertigt, daß diese Teilchen nichts anderes als amorpher Schwefel seien. Nach 43 Stunden (Versuch 28, 0,0108 g $As_2S_3$) sind diese Teilchen sowie die des Sulfids fast vollständig verschwunden und nach 168 Stunden (0,0066 g $As_2S_3$) sind sie nicht mehr anzutreffen.

Nach 168 und 503 Stunden (Versuch 29 u. 30, $As_2S_3$ 0,0066—0,0050 g) finden wir in der Lunge die gut bekannten, charakteristischen Organisations- und Absorptionserscheinungen der involutiven Periode des hämorrhagischen Lungeninfarktes.

Nach dieser Zeit erweisen sich die Schädigungen sehr oberflächlich: z. B. in Versuch 30 kann man nur eine kleine umschriebene verdickte Stelle des Bindegewebes beobachten, in der das Lungengewebe intensiver pigmentiert ist. Bisher haben wir über die Lunge gesprochen. Was die Gegenwart von $As_2S_3$ in den anderen untersuchten Organen anbelangt, so kann man sagen, daß mit Ausnahme des Versuches 25 das $As_2S_3$ nicht vorgefunden wurde. Bei diesem Versuche wurden ganz kleine gelbe Partikelchen in den Lebercapillaren beobachtet, jedoch in sehr geringer Anzahl.

Die beobachteten Veränderungen des Magens, des Darmes, der Niere und der Leber waren die gewöhnlichen, die man bei der akuten und subakuten Arsenvergiftung beobachtet; darüber haben wir schon früher gesprochen. Diese Schädigungen wurden bei den Kaninchen der Versuche 22, 23 und 24 nicht beobachtet; die Magen- und Darmschädigungen begannen erst im Versuche 25 aufzutreten und waren ganz evident im Versuche 26. In den folgenden Versuchen traten vorzugsweise die Entzündungserscheinungen, die hämorrhagischen und degenerativen Prozesse in der Leber und in der Niere in den Vordergrund.

## V. Pharmakologische Wirkung.

Um das bisher Gesagte klar verstehen zu können, müssen wir uns drei Gruppen von Tatsachen vor Augen halten:

1. Die Eigenschaften und das chemische und chemisch-physikalische Verhalten des kolloidalen und festen Arsentrisulfids.

2. Die Änderungen des physikalischen Zustandes, die Fixation in den Geweben, die Änderungen des chemischen Zustandes des injizierten Arsentrisulfids.

3. Die Überlebungszeit, die Symptomatologie, die makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen in den verschiedenen Organen.

Die in vitro gemachten Versuche geben uns durch Analogie eine Erklärung für die rasche Fixation des $As_2S_3$ in den Lungen: kaum ist das Kolloid in den Venen injiziert, so ändert es sehr rasch seinen physischen Zustand und geht aus der Dispersionsphase in den Hydrogelzustand, und dann in die feste Phase über; d. h. von ultramikroskopischen Partikelchen geht es in mikroskopisch sicht-

bare Massen über. Diesem raschen Phasenwechsel muß die Fixation in den Lungen des ganzen oder fast des ganzen injizierten $As_2S_3$ zugeschrieben werden. Auch beim Quecksilbersulfid, nach Lotermosers Methode hergestellt (ohne Schutzkolloid, wenig stabil), hat Sabbatani eine vorwiegende Fixation in der Lunge beobachtet. Dieser unmittelbare Wechsel hat für die Auslegung der pharmakologischen Wirkung eine ganz besondere Bedeutung.

In erster Linie ist es klar, daß bei der Injektion des kolloidalen $As_2S_3$ wir der unmittelbaren Wirkung des Kolloids nur jene Erscheinungen zuschreiben können, die der Injektion unmittelbar folgen. Die nachträglichen Erscheinungen hingegen können wir nicht der Wirkung des Kolloids zuschreiben.

Wir haben gesehen, daß mit Ausnahme der Versuche 20—21, wo sehr hohe Dosen injiziert wurden, die Tiere keine Symptome aufweisen. Die direkte Wirkung der kolloidalen Phase ist dabei gleich Null oder wenigstens kann sie nicht wahrgenommen werden. In zweiter Linie ergeben sich infolge der raschen Fixation in der Lunge des $As_2S_3$, besonders wenn hohe Dosen gebraucht werden, die wichtigen Läsionen mechanischer Natur.

Diese Läsionen, die von der chemischen Natur des injizierten Kolloids nicht abhängig sind, können gewöhnlich für jene Sulfide (Blei, Kupfer, Quecksilber), die infolge ihres stabilen Zustandes sich in den verschiedenen Organen und Geweben verteilen, vernachlässigt werden. Im Falle des Arsentrisulfids jedoch kann die sehr rasche Fixation zahlreicher Körperchen in den Lungencapillaren sicher nicht vernachlässigt werden; in der Tat handelt es sich um eine echte Lungenembolie, die, wenn sie sehr ausgedehnt auftritt, einzig und allein die Ursache des unmittelbaren Todes sein kann, der nicht von der chemischen, giftigen Wirkung des injizierten Arsens abhängt, sondern auf die durch den raschen Phasenwechsel hervorgerufenen mechanischen Läsionen zurückzuführen ist. Es erscheint uns wahrscheinlich, daß der Tod durch 0,0837 bis 0,1206 g $As_2S_3$ pro Körpergewicht dieser letzten Tatsache zuzuschreiben sei. Die letale Wirkung können wir, wie schon am Anfange dieser Arbeit gesagt wurde, dem Arsenanhydrid, der sich als Verunreinigung in den kolloidalen Lösungen vorfindet, nicht zuschreiben; es scheint uns auch unwahrscheinlich, daß der rasche Tod infolge einer sehr raschen Oxydation des $As_2S_3$ in arsenige Säure oder Arsensäure auftrete. Die histologische Unter-

suchung bestätigt, daß das Arsensulfid erst nach einigen Tagen verschwindet, und es ist daher unmöglich, daß eine so große Menge $As_2O_3$ in den Blutkreislauf gelange, die bereits nach wenigen Minuten den Tod herbeiführen kann.

Wir können daher nicht an eine chemische Wirkung denken, sondern müssen uns den Tod durch mechanische Läsionen herbeigeführt denken und dem Auftreten dieses mechanischen Faktors die jähe Abweichung der Kurve in der graphischen Darstellung zuschreiben. Ist die Dosis nicht sehr hoch, so zeigt sich die mechanische Wirkung nicht so entschieden, jedoch ist sie, wie wir später sehen werden, nicht ohne jeden Einfluß auf die Pathogenesis der Lungenläsionen.

Würde das Sulfid unlöslich sein, so müßte es nach erfolgter Fixation sich inaktiv zeigen und seine Wirkung würde nicht über ein Hindernis in der Blutzirkulation und über die Reaktionserscheinungen hinausgehen, die durch den mechanischen Reiz, den die Körperchen ausüben, hervorgerufen werden. Das Arsentrisulfid ist aber, wie wir bereits anfangs gesagt haben, in Wasser löslich. Dieser geringe Löslichkeitsgrad wird sich sicher bei Körpertemperatur steigern und ist infolge der hohen spezifischen Giftigkeit des Moleküls und der Oxydationsprodukte für die pharmakologische Wirkung von besonderer Wichtigkeit. Es wird sich zwischen der festen und der flüssigen Phase und zwischen den verschiedenen Komponenten der flüssigen Phase folgender Gleichgewichtszustand bilden:

$$\underset{\text{feste Phase}}{As_2S_3} \rightleftarrows \underset{\text{flüssige Phase}}{As_2S_3 \rightleftarrows 2\,\dot{\dot{\dot{A}}}s\ \ 3\,S''}$$

Im Innern der Lungengefäße wird sich in diesem Zeitpunkte gelöstes Arsen vorfinden: an dieser Stelle muß ich im allgemeinen an die wohlbekannte toxische Wirkung sämtlicher Arsenverbindungen auf die Gefäßwände erinnern; insbesondere an die kaustische Wirkung des $As_2S_3$, sei es, daß sie durch das Molekül des Sulfids, sei es, daß sie durch die Oxydationsprodukte, von denen manche (z. B. Arsenigesäureanhydrid) als besonders kaustisch bekannt sind [Pasini [17])], bedingt wird.

Diese Einwirkung des gelösten Arsens tritt in den durch festes $As_2S_3$ mehr oder weniger verschlossenen Gefäßen auf. In diesem Zeitpunkte muß man die pharmakologische Wirkung als das Ergebnis von Schädigungen mechanischer und chemischer

Natur ansehen; denn durch diese beiden Faktoren werden die günstigsten Bedingungen für die Bildung eines Lungeninfarktes geschaffen. Es ist bekannt, daß zu dessen Entstehung zu gleicher Zeit der Verschluß eines Gefäßes, eine Insuffizienz des kollateralen Kreislaufes und ein Zustand besonderer Durchlässigkeit der Gefäßwände abhängig von den Folgen einer gleichzeitigen oder vorhergegangenen Stauung oder von Schädigungen anderer in unserem Falle toxischer Natur notwendig ist. Da die lokale Einwirkung auf das Lungengewebe durch die Anwesenheit löslicher Produkte um das Teilchen bedingt wird und da die Konzentration dieser letzteren (lösliche Produkte) für einen bestimmten Punkt, unabhängig von der Dosis, konstant ist, so müßten allem Anscheine nach die Schädigungen des Gewebes um die einzelnen Teilchen in analoger Weise von der Dosis unabhängig sein. Da jedoch bei Verminderung der Dosen sich auch die Zahl der verschlossenen Gefäße vermindert, so wird bei diesen Bedingungen eine raschere Elimination der löslichen toxischen Verbindungen und vor allem ein leichter und kompensatorischer kollateraler Blutkreislauf geschaffen; woraus sich die Geringfügigkeit oder das Fehlen jener mechanischen Schädigungen des Blutkreislaufes erklären lassen, die für die Pathogenesis des Lungeninfarktes von grundlegender Bedeutung sind. Daraus erklärt sich jedes Fehlen von Lungenläsionen bei Verwendung von geringen Dosen. Nachträglich oxydiert sich das Arsentrisulfid, und das Arsen geht in Verbindungen über, die mehr löslich, mehr dissoziiert und pharmakologisch mehr wirksam sind.

Daß das Arsentrisulfid tatsächlich oxydiert, scheinen einerseits das rasche Verschwinden des Arsentrisulfids aus der Lunge (einzig und allein der Löslichkeit sein Verschwinden zuzuschreiben, scheint wegen seines geringen Löslichkeitsvermögens etwas schwierig), andererseits das Auftreten der Symptome einer allgemeinen Arsenvergiftung zu beweisen, Symptome, die denjenigen ähnlich sind, die nach Injektion löslicher Arsenverbindungen (Arsenite und Arseniate) auftreten, wobei zwischen ihren toxischen Dosen und denjenigen des kolloidalen Sulfids, wie wir sehen werden, ein bedeutender Zusammenhang besteht. Ferner ist das Auftreten minimal kleiner Schwefelpartikelchen, die sich um die kleinen $As_2S_3$-Massen ablagern, ein Beweis für die Oxydation des Arsentrisulfids. Wir müssen diese drei erwähnten Tatsachen etwas näher prüfen.

Was das Verschwinden des Arsentrisulfids anbelangt, so muß ich in Erinnerung bringen, daß bei der mikroskopischen Untersuchung schon nach 40—50 Stunden keine $As_2S_3$-Teilchen mehr anzutreffen sind. Dieses rasche Verschwinden, das uns das rasche Auftreten der Arsenvergiftung zur Genüge erklärt, erscheint überraschend, wenn man sich die lange Aufenthaltsdauer anderer Sulfide (PbS, HgS) im festen Granulationszustande, im Inneren der Organe vergegenwärtigt; jedoch muß man sich vor Augen halten, in welchen Organen das Sulfid zur Fixation gelangt: es ist selbstverständlich, daß ein Organ je nach seiner Natur, nach seinen chemischen, chemisch-physischen und physiologischen Eigenschaften, einen direkten Einfluß auf die Löslichkeit des Sulfids und dessen Umwandlung in andere Verbindungen ausüben wird. Und tatsächlich beobachtete auch Quattrini[18]) beim kolloidalen Quecksilbersulfid, dessen Granula im Verhältnis zu seiner geringen Löslichkeit sich lange in den Geweben ohne beachtenswerte Schädigungen derselben aufhalten, nur erhebliche Schädigungen in den Lungen, die er der raschen chemischen Umwandlung des Quecksilbersulfids im Zusammenhang mit der physiologischen Funktion der Lunge selbst zuschreibt. Das rasche Verschwinden des Arsentrisulfids darf uns also in keinerlei Weise wundern. Was ferner das Auftreten der Symptome einer allgemeinen Arsenvergiftung betrifft, so entsprechen sie, wie wir schon oben gesehen haben, vollkommen denen, die nach der Injektion anderer löslicher Arsenverbindungen auftreten. Allerdings ist es sehr schwer festzustellen ob das Arsentrisulfid nach Oxydation aus der Lunge in Form von Arsensäure oder arseniger Säure oder in Form einer anderen Verbindung in den Blutkreislauf übergeht. In der Tat. die chemische Untersuchung nach Arsenverbindungen in den Eliminationsprodukten, die sich, wie aus den Arbeiten Vitalis[19]), Severis[20]) u. a. hervorgeht, sehr schwierig und unsicher gestaltet, kann diese Frage nicht in befriedigender Weise beantworten: es ist auch nicht gesagt, daß jene Verbindung, die sich in der Lunge durch Oxydation des Arsentrisulfids bildet, gleichgültig welche sie ist, frei sich im Blutkreislaufe befinde und als solche ausgeschieden werde. Es ist auch möglich, daß es das Entgegengesetzte ist. Einige Anhaltspunkte können wir in den Angaben der Tabelle V, die die Überlebens zeit der mit steigenden Dosen von arseniger Säure, Natrium-

arseniat ($Na_2HAsO_4 + 7\,H_2O$) und Arsentrisulfid intravenös injizierte Kaninchen betreffen, finden*).

Zur leichteren Übersicht dieser drei Verbindungen sind die As-Dosen in Gramm pro Kilogramm Körpergewicht angegeben. Wie bereits in einer anderen Arbeit [2]) gesagt, kann durch Injektion starker Dosen von arseniger Säure der Tod binnen wenigen Minuten herbeigeführt werden.

Aus der Tabelle V ist ersichtlich, daß bei Injektion von $As_2O_3$, bei 0,022 g As die Tiere 12 Minuten überleben. Bei gleichbleibender As-Dose überleben die Tiere 8—9 Stunden bei Injektion von Natriumarseniat und 12—13 Stunden bei Injektion kolloidalen $As_2S_3$. Die Überlebungsdauer nach Injektion von Arsentrisulfid nähert sich sehr der nach Injektion von Natriumarseniat. Es wäre jedoch zu übereilt, wollte man aus dieser Übereinstimmung einen Beweis für die Umwandlung des Arsensulfids in Arsensäureverbindungen erbringen. Bei Injektion kolloidalen $As_2S_3$ entsteht, infolge der Zustandsveränderungen, ein langsamer und fortwährender Übergang in den Blutkreislauf der löslichen Verbindungen; ein Übergang, der automatisch durch die Gleichgewichtsbedingungen der verschiedenen Phasen erfolgt. Es ist bereits früher erwähnt worden, daß nach 43 Stunden bei der histologischen Untersuchung in der Lunge eines mit 0,0108 g $As_2S_3$ (As 0,0065 g) pro kg Körpergewicht behandelten Kaninchens nur ganz geringe und zweifelhafte Spuren von $As_2S_3$ nachgewiesen werden konnten. Wenn wir nun, den Übergang der löslichen Produkte in den Kreislauf zeitlich sich gleichmäßig und einheitlich gestaltend, annehmen, so ergibt sich eine Absorptionsgeschwindigkeit, die etwas geringer ist als 0,00015 g in der Stunde. Wenn wir annehmen, daß die Absorption in geraden Verhältnisse zu der Dosis vor sich gehe, so ergibt sich pro 0,022 g injizierten As eine Absorptionsgeschwindigkeit von ungefähr 0,0005 g As in der Stunde. Nach 12 Stunden, d. i. die Überlebungszeit bei solcher Dosis, müßten 0,006 g As pro kg im Blute sich befinden. (In Wirklichkeit müßte man noch die Menge As, die zu gleicher Zeit ausgeschieden wird, abziehen.) Bei Injektion von 0,006 g As in Form von Natriumarseniat beträgt die Überlebungszeit 60—70 Stunden. Für hohe Dosen ist dieser Vergleich nicht gerechtfertigt; die geringere Überlebungszeit nach Arsentrisulfid ist, außer seiner allgemeinen Wirkung, die Folge einer lokalen Wirkung, die bei der akuten Vergiftung durch Natriumarseniat und arsenige Säure fehlt.

Für geringere Mengen ist dieser Vergleich gut angebracht; in diesem Falle fehlen die Lungenschädigungen ganz oder sie sind nur ganz leichter Natur. Ebenso ist in diesen Fällen auch die Absorptionsgeschwindigkeit bei normalem Lungenkreislaufe eine größere. Die kleinste noch tödliche Dosis der arsenigen Säure und

---

*) Die Daten der ersten 2 Verbindungen entstammen einer meiner früheren Arbeiten [1]).

Tabelle V.

Intravenöse Injektionen anorganischer As-Verbindungen.

| Injiziertes $As_2O_3$ | | Injiziertes kolloidales $As_2S_3$ | | Injiziertes $Na_2HAsO_4 + 7H_2O$ | |
|---|---|---|---|---|---|
| Menge d. As in g pro kg | Ausgang | Menge d. As in g pro kg | Ausgang | Menge d. As in g pro kg | Ausgang |
| 0,0023 | lebt und nimmt zu | 0,0024 | lebt und nimmt zu | 0,0024 | lebt und nimmt zu |
| 0,0026 | „ „ „ „ | 0,0026 | stirbt nach 7 Tagen | 0,0031 | „ „ „ „ |
| 0,0037 | stirbt nach 24 Tagen | 0,0029 | lebt und nimmt zu | 0,0037 | stirbt nach 94 Stunden |
| 0,0037 | „ „ 7 „ | 0,0031 | stirbt nach 4—5 Tagen | 0,0056 | „ „ 79 „ |
| 0,0040 | „ „ 30 „ | 0,0034 | lebt; Vergiftungserscheinungen | 0,0075 | „ „ 80 „ |
| 0,0047 | „ „ 3 „ | 0,0037 | stirbt nach 26½ Tagen | 0,0075 | „ „ 32 „ |
| 0,0054 | „ „ 65 Stunden | 0,0042 | lebt; Vergiftungserscheinungen | 0,0085 | „ „ 75 „ |
| 0,0061 | lebt; Vergiftungserscheinungen | 0,00481 | stirbt nach 8—9 Tagen | 0,0088 | „ „ 21 „ |
| 0,0068 | stirbt nach 51 Stunden | 0,00487 | „ „ 44 Stunden | 0,0088 | „ „ 46 „ |
| 0,0076 | „ „ 49—50 „ | 0,0054 | „ „ 7—8 Tagen | 0,0096 | „ „ 12—13 „ |
| 0,0083 | „ „ 7—8 „ | 0,0059 | „ „ 43½ Stunden | 0,0098 | „ „ 50 „ |
| 0,0092 | „ „ 6—7 „ | 0,0075 | „ „ 22—23 „ | 0,0106 | „ „ 34 „ |
| 0,0094 | „ „ 5—6 „ | 0,0090 | „ „ 16 „ | 0,0113 | „ „ 16—17 „ |
| 0,0113 | „ „ 3 „ | 0,0135 | „ „ 16½ „ | 0,0151 | „ „ 10 „ |
| 0,0133 | „ „ 1 Stunde 55 Min. | 0,0220 | „ „ 13 „ | 0,0173 | „ „ 9 „ |
| 0,0136 | „ „ 1 „ 40 „ | 0,0342 | „ „ 12 „ | 0,0228 | „ „ 8—9 „ |
| 0,0151 | „ „ 1 „ 30 „ | 0,0408 | „ „ 12 „ | 0,0319 | „ „ 8—9 „ |
| 0,0166 | „ „ 60—70 Minuten | 0,0484 | gleich am Ende der Injektion | — | |
| 0,0196 | „ „ 17 „ | 0,0734 | „ „ „ „ „ | — | |
| 0,0222 | „ „ 12 „ | — | | — | |
| 0,0270 | „ „ 10 „ | — | | — | |
| 0,0378 | „ „ 9—10 „ | — | | — | |

des Natriumarseniates beträgt 0,0037 g As pro kg Körpergewicht. Für das Arsentrisulfid beträgt sie 0,0031 g. Wenn wir den individuellen Empfindlichkeitsverschiedenheiten, die wir nicht aufheben können, Rechnung tragen, können wir ruhig sagen, daß die Dosen dieser drei Verbindungen gleich sind. Diese Tatsache kann uns veranlassen, zu glauben, daß die genannten drei Verbindungen im Organismus sich zu einer neuen und identischen Verbindung umwandeln. In einer anderen Arbeit hatte ich auf die Hypothese hingewiesen, daß sich die anorganischen Arsenverbindungen zu einer einzigen toxisch wirkenden Verbindung umwandeln; einen Beweis für diese Hypothese liefert das bisher über das Arsentrisulfid Gesagte. Für die pharmakologische Wirkung ist jedoch gleichgültig, ob sich das Sulfid zu arseniger Säure oder Arsensäure umwandelt. Diese beiden zuletzt genannten Verbindungen weisen, wenn in hohen Dosen verabreicht, eine verschiedene Wirkung auf: dabei aber erscheint das Arsentrisulfid hauptsächlich für das Lungengewebe toxisch, was bei Injektion der beiden anderen Verbindungen nicht der Fall ist. Bei geringen Dosen ist die allgemeine pharmakologische Wirkung der arsenigen Säure, der Arsensäure und des Arsentrisulfids nicht verschieden. Bei dem letzteren kommt noch die lokale heftige, wenn auch nicht toxische Wirkung auf die Alveolen und Capillaren der Lunge hinzu.

Die Tatsache, daß die minimal kleinen Teilchen des Schwefels sich auf die kleinen $As_2S_3$-Massen ablagern, ist ein entschiedener Beweis für die Zersetzung des Sulfids. Auf welche Weise diese Zersetzung zustande kommt, kann man vielleicht durch Analogie aus den in vitro vor sich gehenden Prozessen schließen:

$$As_2S_3 + 3\,O = As_2O_3 + 3\,S\,.$$

Man kann jedoch auch annehmen, daß die Reaktion sich an den Komponenten der hydrolytischen Phase vollzieht:

$$As_2O_3 + 3\,H_2S + 3\,O = As_2O_3 + 3\,H_2O + 3\,S\ ^{*}).$$

---

*) Die Behauptung, daß die Oxydation sich an den Produkten der Hydrolyse vollziehe, d. h. daß der Schwefelwasserstoff sich in Schwefel umwandle, könnte vielleicht etwas gewagt erscheinen, denn aus der Pharmakologie ist bekannt, daß der Schwefel im Organismus sich in Schwefelwasserstoff umwandelt [De Rey Peilhade[21]), Heffter[22]), Sabbatani[23])]. Jedoch muß man sich vor Augen halten, daß beim Arsentrisulfid der Prozeß sich in den Lungencapillaren vollzieht und daß Sabbatani, der kolloidalen Schwefel mit Blut oder Blutserum mischte, keine Entwicklung von

Gleichgültig in welcher Art der innigere Oxydationsprozeß vor sich geht, sei es, daß er sich an deren undissoziiertem Molekül oder an den Produkten der elektrolytischen Dissoziation oder an denen der hydrolytischen Dissoziation vollzieht, es handelt sich immer um eine Substitution des Schwefels durch Sauerstoff.

Später tritt die Oxydation des Schwefels ein, was durch das Verschwinden der Teilchen bewiesen ist. Auch beim Arsentrisulfid tritt als Endresultat eine maximale Oxydation des S''-Anionen ein, was mit den Behauptungen Sabbatani[24]) in seiner Abhandlung über die kolloidalen Sulfide im allgemeinen übereinstimmt *).

Zuletzt will ich noch bezüglich der pharmakologischen Wirkung bemerken, daß in dem Molekül $As_2S_3$ die aus der Oxydation des Elementes S entstandenen Produkte, sei es infolge ihrer langsamen Entwicklung, sei es infolge ihrer Unwirksamkeit bei vollzogener Oxydation, von keinerlei Bedeutung sind. Von grundlegender Bedeutung hingegen sind, wie wir bereits gesehen haben, die Oxydationsprodukte des Arsen.

---

Schwefelwasserstoff beobachten konnte. Ferner ist aus der Pharmakologie bekannt, daß der Schwefelwasserstoff im Organismus zu Schwefelsäure oxydiert. Man muß aber beim Übergang $H_2S \rightarrow H_2SO_4$ eine Zwischenphase des Schwefels annehmen, die von längerer oder kürzerer Dauer sein muß.

Ich bringe an dieser Stelle noch eine Tatsache aus der Biologie vor, daß nämlich im Protoplasma der Beggiatoa alba Schwefel vorhanden ist in Form ganz kleiner stark lichtbrechender Granula, der von der Oxydation des Schwefelwasserstoffes stammt. Über diese interessanten Oxydations- und Reduktionsprozesse des Schwefels im Organismus werde ich in einer anderen Arbeit näher sprechen.

*) Daß diese Ablagerung von Schwefel auch bei anderen kolloidalen Sulfiden vorkommt, scheint sehr wahrscheinlich zu sein. Jedenfalls ist es sicher, daß die verschiedene Schnelligkeit in den beiden Oxydationsphasen Sulfid-Schwefel und Schwefel-Schwefelsäure uns eine solche Ablagerung zu beobachten gestatten kann oder auch nicht gestatten kann, die von den chemischen und chemisch-physischen Eigenschaften des Sulfidmoleküls und von den Eigenschaften des Organs, in welchem es fixiert wird, abhängt. Amkvist[25]), Sabbatani und Quattrini beobachteten die Bildung gelber Teilchen in den Geweben infolge der Veränderungen des kolloidalen HgS. Es ist jedoch wahrscheinlich, schon ihres abweichenden Aussehens wegen, daß diese Teilchen nicht Schwefel sind. Vielmehr dürften sie, wie Sabbatani meinte, komplexe Schwefelsalze sein.

**VI. Versuche, bei denen die Lösungen subcutan injiziert wurden.**

Ich habe über die pharmakologische Wirkung des kolloidalen Arsentrisulfids nach subcutanen und nach intramuskulären Injektionen Untersuchungen angestellt. Bei beiden Arten waren die Ergebnisse die gleichen. Der Kürze halber führe ich nur die Versuche an, bei denen die Lösungen subcutan injiziert wurden; Versuche, die in der Tabelle VI zusammengefaßt sind.

Tabelle VI.
Versuche mit subcutanen Injektionen.

| Nr. | Injiziertes $As_2S_3$ % | Injiziertes $As_2S_3$ Menge in ccm | Injiziertes $As_2S_3$ Menge in g | Injiziertes As in g | Das Tier wurde getötet nach | Verhältnis $g = \frac{d}{f}$ | Beobachtungen |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | b | c | d | e | f | g | h |
| 31 | 0,604 | 1 | 0,006 | 0,0037 | 15 Min. | — | Intensiver gelber scharf umschriebener Fleck, von ca. 1,5 cm Durchmesser, sich auf das Unterhautbindegewebe erstreckend. |
| 32 | 0,114 | 1 | 0,001 | 0,0006 | 19 Std. | — | Sichtbarer gelber Fleck im Unterhautbindegewebe und in der Fascia superficialis. — Starke Gefäßdilatation besonders an der Peripherie. |
| 33 | 0,604 | 1 | 0,006 | 0,0037 | 1 Tag | 0,00604 | Länglicher umschriebener gelber Fleck — das umgebende Unterhautbindegewebe rot, hyperämisch, ödematös, etwas hart. |
| 34 | 0,604 | 1 | 0,006 | 0,0037 | 6 Tage | 0,00100 | Runde nekrosierte Stelle, mit scharfen Rändern, von einem roten Hof umgeben. Hier und da zweifelhafte Gelbfärbung. |
| 35 | 0,114 | 1 | 0,001 | 0,0006 | 10 Tage | 0,00011 | Runde nekrosierte scharf umschriebene Stelle; runder peripherischer roter Hof; an verschiedenen Punkten Hämorrhagien älteren Datums; zweifelhafte Gelbfärbung. |
| 36 | 0,114 | 1 | 0,001 | 0,0006 | 14 Tage | 0,00007 | Runde nekrosierte Stelle mit scharfen Rändern; roter peripherischer Hof. — Überbleibsel vorausgegangener Hämorrhagien. |

Injiziert wurde, bei Beachtung der üblichen aseptischen Maßregeln, an der Seite, nachdem das Haar an dieser Stelle rasiert war. Die Versuchstiere wurden zu bestimmten Zeiten durch einen Stich ins verlängerte Mark getötet und nach Abziehung des Felles wurden die betreffenden Stellen des Unterhautbindegewebes, in die die Lösung injiziert worden war, freigelegt.

In den ersten Stunden beobachtet man bei der Inspektion keine nennenswerten Veränderungen an der Injektionsstelle. Erst nachträglich erscheint eine leichte Anschwellung. Nach ungefähr 2 Tagen erscheint ein weißlicher, runder, umschriebener Fleck, mit erhobenen, harten Rändern, der von

einem intensiv roten Hof umgeben ist: dieser Stelle entsprechend ist die Haut hart und steif und läßt sich vom Unterhautbindegewebe nicht mehr abheben. Die Haare lassen sich leicht entfernen. Diese Veränderungen halten lange Zeit an. Nach Entfernung der Haut beobachtet man, was in der Tabelle beschrieben ist: man kann kurz sagen, daß infolge der Injektion eine sich auf Haut und Unterhautbindegewebe erstreckende nekrotische Zone gebildet hat. Bei Anwendung stärkerer Dosen (0,006 g) können auch die tieferliegenden Gewebe geschädigt sein: im Versuche 34 (nach 6 Tagen) z. B. ist die Muskulatur hart und verdickt, und ein Teil des Omentum majus ist mit der Bauchwand verwachsen. Rings um die nekrotische Stelle bildet sich eine ausgesprochen entzündete Zone. Die gelbe Färbung verschwindet ganz allmählich; um so langsamer, je höher die injizierte Menge ist. Gewöhnlich ist sie bis 48 Stunden nach der Injektion gut sichtbar. In einer späteren Zeit ist sie makroskopisch nicht mehr sichtbar; bei der mikroskopischen Untersuchung bemerkt man gelbe $As_2S_3$-Massen bis 6 Tage nach erfolgter Injektion. Die Beobachtung ist jedoch durch tiefgehende Schädigungen der Gewebe und hauptsächlich durch das aus den Gefäßen ergossene Blut erschwert. Es ist entschieden, daß die Absorption geringer ist als 1 mg $As_2S_3$ pro Tag (siehe das Verhältnis $g = \frac{d}{f}$ aus Tabelle VI), und daß sie ungefähr 0,1 mg beträgt, wie aus dem Versuche 35, in welchem die Absorption als vollkommen angesehen werden kann, ersichtlich ist. In der Entzündungszone, die den nekrotischen Teil umgibt, ist eine reichliche Leukocyteninfiltration zu beobachten.

Alle Kaninchen waren wohlauf; die der Versuche 34, 35, 36 nahmen sogar an Gewicht zu. Aus dem, was vorher über die Untersuchungen in vitro und über die durch intravenöse Injektionen angestellten Versuche gesagt ist, dürften auch die Veränderungen chemischer und chemisch-physischer Natur und die darauffolgenden Momente der pharmakologischen Wirkung genügend geklärt sein, auch für die Fälle, in denen die Lösung subcutan injiziert wurde. Wird das kolloidale Arsentrisulfid in das Unterhautbindegewebe injiziert, so erfolgt gleich nach dem Zusammenkommen der Lösung mit den Geweben und den physiologischen Flüssigkeiten ein rascher Übergang vom Hydrosolzustand in den Hydrogelzustand und von der kolloidalen Dispersionsphase in den festen granulären Zustand. Infolge des raschen Zustandswechsels dürfen wir nach der Injektion, vielleicht auch während der Injektion selbst, nicht mehr von einer Wirkung des kolloidalen Arsentrisulfids, sondern von einer Wirkung des festen Arsentrisulfids sprechen: denn letzteres findet man tatsächlich im Unterhautbindegewebe. Ein charakteristisches Merkmal bildet die Feinheit der Granula und infolge der Adsorptions- und Neutralisationserscheinungen der elektrischen Ladung mit organischen Kolloiden ihre Fixation in den Geweben. Infolge neuer Zustandswechsel und neuer chemischer Umwandlungen, was durch das Verschwinden des gelben Fleckes und durch Auftreten ausgedehnter Veränderungen in den Geweben bewiesen ist, erfolgt nachträglich die Absorption. Diese läßt sich leicht erklären, wenn man sich das Löslichkeitsvermögen des Arsentrisulfids vor Augen hält. Wir werden somit um die einzelnen Teilchen

gelöstes Arsentrisulfid haben. Infolge seines raschen Oxydationsvermögens geht es rasch in andere chemische Verbindungen über: es tritt somit ein Bruch der Gleichgewichtsbedingungen ein und ein neuerlicher Übergang des Sulfids in Lösung. Daraus lassen sich die schweren Schädigungen der benachbarten Gewebe erklären, die an den Punkten, in denen die Konzentration des verwendeten Mittels stärker ist, der Nekrose anheimfallen, während sie an der Peripherie, sei es infolge der Wirkung des Giftes, sei es infolge des Reizes, den die nekrotischen Teile ausüben, mit lebhaften Entzündungserscheinungen reagieren. Die Gegenwart zahlreicher Leukocyten an der Peripherie der nekrotischen Zone läßt sich außer als eine Entzündungserscheinung auch als eine Folge einer positiven Chemotaxis der löslichen Arsenverbindungen erklären (Pasini - Meneghetti). — Zusammenfassend kann man sagen, daß nach subcutaner Injektion des Arsentrisulfids die lokale Wirkung viel intensiver ist, das Verschwinden der Teilchen viel schneller vor sich geht, als es bei anderen Kolloiden wie dem Blei-, dem Quecksilbersulfid und dem Eisenhydroxyd der Fall ist. Wie aus dem Kapitel IV ersichtlich, ist die tiefgehende Einwirkung des Arsentrisulfids eine Folge der spezifischen Giftigkeit des $As_2S_3$-Moleküls; das schnelle Verschwinden der Teilchen eine Folge seines leichten Oxydationsvermögens. Trotz dieses relativ raschen Absorptionsvermögens wurden niemals irgendwelche Symptome einer allgemeinen Vergiftung beobachtet; eine Tatsache, die sich dadurch erklären läßt, daß die im Verlaufe des Tages in den Kreislauf eingelangten Mengen sich unterhalb der toxischen Dosis befinden, wahrscheinlich in der Höhe der therapeutischen Dosen liegen. Tatsächlich nahmen die Versuchstiere sowohl nach subcutanen als auch nach intramuskulären Injektionen an Körpergewicht zu.

## VII. Versuche, bei denen das Arsentrisulfid per os eingeführt wurde.

Auf diesem Wege wurde das Arsentrisulfid in verschiedenen Mengen an 8 Kaninchen verabreicht. Die Versuche sind auf Tabelle VII zusammengefaßt.

Tabelle VII.

Versuche, in denen das Arsentrisulfid per os eingeführt wurde.

| Nr. | Körpergewicht | Verwendete $As_2S_3$-Lösung | | | | Menge in | | Injiziertes As in g pro kg | Ergebnis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Nr. zu Tab. I | Alter d. Lösung in Tage | % | Menge in ccm | g | in g pro kg | | |
| a | b | c | d | e | f | g | h | i | l |
| 37 | 0,850 | XIV | 2 | 0,594 | 1 | 0,0059 | 0,0070 | 0,0043 | befindet sich immer wohl |
| 38 | 1,000 | XIII | 1 | 0,603 | 10 | 0,0603 | 0,0603 | 0,0378 | " " " " |
| 39 | 1,730 | XIV | 3 | 0,594 | 20 | 0,1188 | 0,0686 | 0,0428 | leichte Diarrhöe, überlebt |
| 40 | 1,500 | IX | 160 | 0,570 | 20 | 0,1140 | 0,0760 | 0,0475 | Diarrhöe, stirbt n. 20 Std. |
| 41 | 0,900 | XIII | 2 | 0,603 | 12 | 0,0723 | 0,0804 | 0,0502 | wie oben, Nr. 37, 38 |
| 42 | 1,620 | IV | 3 | 0,594 | 25 | 0,1485 | 0,0917 | 0,0573 | Diarrhöe, stirbt n. 3½ Tg. |
| 43 | 1,000 | XIII | 2 | 0,603 | 30 | 0,1809 | 0,1809 | 0,1130 | wie oben, Nr. 37, 38, 41 |
| 44 | 1,200 | XIII | 1 | 0,603 | 50 | 0 3015 | 0,2512 | 0,1570 | Diarrhöe, stirbt n. 15 Std. |

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Kaninchen bei Dosen bis zu 0,0603 g $As_2S_3$ pro kg Körpergewicht (As 0,0378 g) sich wohl befinden oder wenigstens keine sichtbaren Symptome aufweisen. Bei stärkeren Dosen starben manche nach wenigen Stunden, andere nach einigen Tagen, andere hingegen überlebten den Eingriff, ohne irgendwelche Intoxikationserscheinungen aufgewiesen zu haben.

Der Tod des Kaninchens des Versuches 40 kann als eine Folge der verwendeten Lösung, die sehr alt war (Kolonne d der Tabelle VII) angesehen werden; wir haben schon darauf hingewiesen, daß die Lösungen im Laufe der Zeit verderben. In der beim Versuche 40 verwendeten Lösung wurde mittels chemischer Analyse die Gegenwart nennenswerter Mengen $As_2O_3$ festgestellt. Da die minimale Dosis $As_2O_3$, die beim Kaninchen per os eingeführt, tödlich wirkt, 0,02 g pro kg Körpergewicht, d. i. 0,15 g As beträgt, ist anzunehmen, daß im genannten Versuche, in dem 0,0475 g As verabreicht wurden, das Arsenanhydrid den tödlichen Ausgang zur Folge hatte.

Jedoch kann diese Erklärung nicht auf die anderen Versuche erstreckt werden; denn die chemische Analyse nach arseniger Säure in den einzelnen Lösungen war immer negativ.

Wir müssen daher die Vergiftungserscheinungen dem Arsensulfid oder seinen Transformationsprodukten zuschreiben, im Gegensatz zu der allgemeinen Behauptung, daß das Arsentrisulfid auch wenn im kolloidalen Zustande per os eingeführt, nicht absorbiert werde und gänzlich unwirksam sei. Es ist zwar wahr, daß in den Versuchen 41—43 die Versuchstiere sich immer wohl befanden und daß diese Verschiedenheit der Ergebnisse sich in keiner Weise hinsichtlich des Ausganges der verabreichten Menge (Kol. l), der Höhe der Gesamtdosis (Kol. g), des Körpergewichts des Tieres (Kol. b), der Dosis pro Kilogramm Körpergewicht (Kol. h) und des Alters der Lösungen (Kol. d—e) in Einklang bringen lassen. Vorläufig müssen wir den Schluß ziehen, daß die Intensität und die Schnelligkeit der toxischen Wirkung von dem Zustande des Magen-Darmkanals abhängen. Die Vergiftungserscheinungen können infolge direkter, lokaler, vom Arzneimittel verursachter, anatomischer Veränderungen der Darmwand oder infolge der Allgemeinvergiftung durch jenen Teil des Arsentrisulfids auftreten, der sich gelöst oder in andere löslichere und leichter absorbierbare Produkte umgewandelt hat; je nach dem Zustand des Darmes werden bald die lokalen, bald die Allgemeinerscheinungen vorwiegen; es ist ferner möglich, daß infolge einer raschen Entfernung des Arsentrisulfids oder infolge der mangelnden chemischen Bedingungen, die für seine Transformation notwendig sind, alle Erscheinungen vollständig fehlen.

Daß das per os verabreichte feste Arsentrisulfid teilweise absorbiert werden kann, ist übrigens schon längst und mit Sicherheit von Vitali[26]) an Hundeversuchen bewiesen worden. Vitali verabreichte per os einem Hunde von 12,2 kg Körpergewicht im Verlaufe von 25 Tagen zusammen 3,25 g $As_2S_3$. Das Tier wies keine Beschwerden auf und nahm an Gewicht zu. Daß das Arsen wirklich in den Kreislauf übergegangen war, wurde mit Sicherheit durch die chemische Analyse des Urins bestätigt, in welchem schon nach Verabreichung von 0,01 g $As_2S_3$ Arsen vorgefunden wurde. Nach den Versuchen Vitalis findet eine spärliche Absorption statt; denn er fand im Urin nie mehr als wenige 0,1 mg pro Tag. Allerdings sind die Nieren nicht der alleinige Ausscheidungsweg. Nach Vitali würde mit dem Harne die Arsensäure ausgeschieden: d. h. die Oxydation hätte ihren Höhepunkt erreicht. Vitalis Methode zur Trennung der arsenigen Säureverbindungen von den Arsensäure-Verbindungen (Fällung der Arseniate in Form basischen Magnesium-Ammonium-Arseniates) wurde von Severi angegriffen, der bewies, daß nach solcher Methode auch ein Teil der Arsenite gefällt wird. Vitalis Versuche beweisen uns daher mit Sicherheit nur, daß nach Verabreichung per os von festem amorphem $As_2S_3$ Arsenverbindungen in die Blutbahn gelangen. Nun entsteht die Frage, wie diese Absorption näher zu erklären sei. Vor allem muß man sich das wenn auch geringe Löslichkeitsvermögen des Arsentrisulfids vor Augen halten. Das gleichzeitige Vorhandensein von Schwefelwasserstoff und Alkali im Darme könnte ferner die Bildung alkalischer Sulfide veranlassen, die das Arsensulfid in lösliche und absorptionsfähige Arsenite umwandeln. Überdies behauptet Vitali, daß das Arsentrisulfid sich bereits im Magen oder im ersten Teile des Darmes, wo physiologisch geringe Mengen Sauerstoff vorhanden sind, oxydieren könne. Ich aber bin der Ansicht, daß Vitalis Ausführungen ungenau sind, weil die Aufenthaltsdauer in diesem Teile des Magen-Darmkanals im Vergleiche mit der Aufenthaltsdauer im übrigen Teile des Darmes zu kurz und die vorhandene Sauerstoffmenge sehr gering ist, und glaube, daß es wahrscheinlicher ist, daß das $As_2S_3$ als Sulfid oder Schwefelarsenit oder als eine andere lösliche Verbindung absorbiert wird und erst späterhin, eventuell im Kreislauf oxydiert. Möglicherweise kann das eventuell vorhandene Ammoniak des Darminhaltes einigen Einfluß ausüben: denn es ist

bekannt, daß das Arsensulfid in Ammoniak löslich ist. Der Wasserstoff in statu nascendi hingegen dürfte allem Anscheine nach keine Bedeutung haben; denn es ist unmöglich, Arsenwasserstoff aus dem Arsentrisulfid durch Einwirkung des Wasserstoffes in statu nascendi zu erhalten[27]), während es möglich ist, es aus den anderen anorganischen Verbindungen in dieser Weise zu erhalten. Jedenfalls scheint es sicher zu sein, daß die verschiedenen chemischen Bedingungen, welche im Magen-Darminhalt gegeben sind, einen bedeutenden Einfluß ausüben müssen. Es ist leicht verständlich, daß andere Forscher, wie z. B. Hillefeld[28]), auch nach Verabreichung ziemlich hoher Dosen von Arsentrisulfid, gar keine Symptome haben beobachten können.

Alle die bisher angeführten Betrachtungen und Werte für das feste, amorphe Arsentrisulfid können auch auf das kolloidale erstreckt werden. Es ist ganz sicher, daß dieses letztere, sobald es in den Magen gelangt und mit der Salzsäure in Berührung kommt, sofort gefällt wird, indem es aus dem kolloidalen in den festen Zustand übergeht. Wir müssen daher a priori jede Möglichkeit ausschließen, daß das $As_2S_3$-Hydrosol, seines hohen Dispersionsgrades wegen, im Magen-Darmkanal direkt im kolloidalen Zustande absorbiert werden könne. Da der Zustandswechsel in Gegenwart des Mageninhaltes vor sich geht, könnte man vielleicht annehmen, daß eine größere Verteilung des amorphen $As_2S_3$ zustande komme, als wenn $As_2S_3$ direkt als solches verabreicht würde: infolgedessen können die Löslichkeitsgeschwindigkeiten und die Übergangsgeschwindigkeit zu verschiedenen anderen chemischen Formen und zuletzt die Absorptionsgeschwindigkeit sich größer gestalten.

## VIII. Zusammenfassung und Schlußfolgerung.

Das kolloidale Arsentrisulfid, gleichgültig in welcher Weise es in den Körper eingeführt wird, geht von der kolloidalen Dispersionsphase in die feste Granularphase über, in analoger Weise wie viele anderen anorganischen Kolloide und mit einer größeren Geschwindigkeit, als es bei einigen wie z. B. dem Quecksilber-, Blei- oder Kupfersulfid der Fall ist. Dieser Zustandswechsel ist von ganz besonderer Bedeutung und übt, je nachdem das Sulfid eingeführt wurde, auf die weitere Entfaltung der pharmakologischen Wirkung einen ganz bestimmten Einfluß aus. — Wird

das kolloidale Arsentrisulfid per os eingeführt, so wirkt der Phasenwechsel hindernd auf die Absorption; überdies findet keine besondere Fixation in den anatomischen Elementen statt, weil der Phasenwechsel gleich nach Berührung mit dem Mageninhalte zustande kommt.

Wird es hingegen subcutan oder intramuskulär eingeführt, so bewirkt der Phasenwechsel die Fixation des Arsentrisulfids in den Geweben in Form ganz kleiner verteilter Körner. Und wenn auch die pharmakologische Wirkung in ihren chemischen Faktoren im Grunde genommen gleich ist derjenigen nach Einführung des festen $As_2S_3$, so kann man sie doch, infolge der größeren Kontaktfläche und der engeren Beziehungen mit den anatomischen Elementen, als verschieden sowohl bezüglich der Intensität als auch der Schnelligkeit betrachten.

Bei der Einführung des Arsentrisulfids auf endovenösem Wege ist der rasche Zustandswechsel zu der festen Phase vor allem die Ursache der anatomischen Veränderungen, die ausschließlich mechanischer Natur sind; denn es bilden sich Embolien, die sich in den kleinen Arterien und hautpsächlich in den Lungencapillaren festlassen. Diese Tatsache kann, insbesondere wenn die injizierte Menge sehr hoch ist, den Tod verursachen infolge des plötzlichen Aufhörens des Lungenkreislaufes. Aber auch wenn nicht ein tödlicher Ausgang erfolgt, erweist sich die verhinderte Blutzirkulation als ein wichtiger Faktor in der Pathogenese der nachfolgenden Veränderungen. Daraus können wir schließen, daß, gleichgültig auf welcher Weise das Arsentrisulfid eingeführt wird, dieses nur im kolloidalen Zustande ein geeignetes Mittel ist, damit eine besondere histologische Fixation festen Sulfids, eine besonders tiefgehende Wirkung desselben zustande komme. Jene Punkte, in denen die Fixation stattfindet, sind einer längeren und intensiveren pharmakologischen Wirkung unterworfen, als es bei Verabreichung äquimolekularer Mengen anderer löslicher anorganischer Arsenverbindungen der Fall ist, die sich zerstreuen und im ganzen Organismus verteilen werden.

Ist der Zustandswechsel, von dem soeben gesprochen wurde, erfolgt, so ist das Arsensulfid an und für sich unwirksam und die nachfolgende Wirkung an die Veränderungen, die es erleidet, gebunden. Es wird aktiv und wirkt toxisch, nur wenn es sich löst und auf chemischem Wege in andere Verbindungen übergeht, die lös-

licher und wirksamer sind. Diese Veränderungen gehen schneller oder langsamer vor sich oder gestalten sich auch verschieden, je nach den anatomischen, physiologischen, chemischen und chemisch-physischen charakteristischen Eigenschaften des Organs, in welchem das Sulfid sich vorfindet. Wie bekannt, besitzt das Arsentrisulfid eine große Oxydationsfähigkeit und ist schon seit alters her zu den Ätzmitteln gezählt. Es wirkt ätzend, nicht unmittelbar, sondern nur langsam, was wir vielleicht der Wirkung seiner Umwandlung in lösliche Verbindungen zuschreiben können, die ihrerseits wie z. B. das Arsenigsäureanhydrid ätzend wirken. Aber damit es ätzend wirke, ist infolge seines geringen Löslichkeitsvermögens eine nicht kurze Berührung mit den Geweben notwendig.

Daraus ist leicht ersichtlich, daß das Arsentrisulfid, wenn per os eingeführt, sich sehr wenig giftig erweist. Infolge der geringen Sauerstoffmenge im ersten Teil des Magen-Darmkanals, des Fehlens des Sauerstoffes im übrigen Teile desselben, des fortwährenden Fortschreitens im Magen-Darmkanal und des daraus folgenden kurzen Zusammenkommens mit den anatomischen Elementen desselben findet eine kaum bemerkenswerte Oxydation statt; die Ätzung und die Absorption werden ganz gering sein und treten nur auf, wenn besondere Bedingungen, d. h. wenn eine langsame und verhinderte Peristaltik vorhanden sind, oder wenn verschiedene chemische Faktoren, verschieden bei den einzelnen Individuen (Schwefelwasserstoff und Alkali?, Ammoniak?), die durch experimentelle Untersuchungen nicht bestimmt werden können, sich geltend machen.

Das Arsentrisulfid, unter die Haut oder in die Muskelmasse gebracht, hat eine sehr stark ätzende Wirkung, obwohl diese nur langsam vor sich geht. Die anatomischen Veränderungen sind in den ersten Stunden sehr gering oder fehlen gänzlich; sie nehmen an Intensität immer mehr und mehr zu, bis sich zuletzt mit dem allmählichen Verschwinden des Sulfids das Bild einer echten Nekrose zeigt. Die Folgen dieses langsamen Verschwindens, die der Gefäßveränderungen selbst, die eine bedeutende Verlangsamung des Ernährungsaustausches zwischen dem gesunden und dem veränderten Gebiete verursachen, bewirken, daß nur eine sehr geringe Menge löslicher Arsenverbindungen täglich in den Blutkreislauf gelangt, eine Menge, die jedenfalls unter der toxischen Dosis steht, ja vielleicht und wahrscheinlich die Höhe der

therapeutischen Dosis erreicht, wie dies die Körpergewichtszunahme der Versuchstiere nach erfolgter Injektion uns erkennen läßt.

Ist hingegen das Arsentrisulfid in den Lungencapillaren fixiert, so geht, infolge des besonderen Verhaltens und der Eigenschaften dieses Organs, die Oxydation rasch vor sich und dadurch ist die Möglichkeit gegeben, daß es nicht nur lokal toxisch wirkt, sondern auch auf eine allgemeine Intoxikation seine Wirkung erstreckt. Die lokale Wirkung überwiegt ganz besonders, wenn die Dosis hoch gehalten ist und wenn infolge der Okklusion mehr oder weniger ausgedehnter Gefäßbezirke die günstigen Bedingungen für die Bildung eines hämorrhagischen Infarktes gegeben sind.

Wenn jedoch der Lungenkreislauf nur wenig geschädigt ist und ein hinreichender Kollateralkreislauf vorhanden ist, werden die lokalen Veränderungen gering, bisweilen auch nicht zu bemerken sein, infolge der raschen Elimination der löslichen Verbindungen und des Fehlens eines Infarktes. In diesem Falle wird das Bild einer allgemeinen Intoxikation vorwiegen, welches jenem ganz identisch sein wird, welches nach Injektion einer anorganischen löslichen Verbindung auftritt. Diese Tatsache ist durch die Symptomatologie, durch die anatomisch-pathologischen Veränderungen und durch das (in Beziehung auf das Arsen) identische Verhalten der tödlichen Minimaldosen des kolloidalen Arsentrisulfids, der Arsenigsäure und des Natriumarseniates bewiesen.

Die Oxydation, die zu den löslichen Verbindungen führt, bewirkt ferner die Ablagerung amorphen granularen Schwefels, der nach einer nachträglichen Oxydation ebenfalls absorbiert wird. Diese Tatsache scheint nicht ohne jegliche Bedeutung zu sein, denn sie ist ein Beweis, daß für die Absorption des kolloidalen Arsentrisulfids, wie der anderen Kolloide, der Übergang zu neuen chemischen Verbindungen notwendig ist. Ferner bereichert diese Tatsache unsere Kenntnisse bezüglich des Verhaltens der kolloidalen Sulfide in unserem Organismus. Es ist möglich, daß bei allen Sulfiden bei der Oxydation fester Schwefel entsteht, der nachträglich zu Schwefelsäure oxydiert. Dieses Zwischenstadium jedoch wird je nach der verschiedenen Geschwindigkeit der einzelnen Oxydationsperioden, d. h. je nach der Natur und den Eigenschaften des Sulfids und des Organes, in welchem es sich fixiert hat, mehr oder weniger bemerkbar sein.

Vom therapeutischen Standpunkte aus betrachtet kann man leicht einsehen, daß, wenn das Arsentrisulfid per os im Organismus eingeführt wird, seine Wirkung entweder gleich unnütz oder unsicher erscheint, wenn es subcutan oder intramuskulär eingeführt als schädlich sich erweist, manchmal seine Einführung auf endovenösem Wege doch nützlich sein kann. Das Sulfid entfaltet, wenn auf diesem Wege eingeführt, eine intensive pharmakologische Wirkung auf die kleinsten Lungengefäße und auf die Lungenalveolen, eine Wirkung, die von keiner anderen organischen oder anorganischen Verbindung erreicht wird. Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß das Arsentrisulfid infolge dieser seiner Wirkung in der Therapie einiger Lungenerkrankungen eine Verwendung finden könne.

---

## Literatur.

[1]) Besredka, M., Ann. de l'inst. Pasteur 13, 49. 1899. — [2]) Meneghetti, E., Arch. di Scienze Biologiche 1, Nr. 3—4. 1920. — [3]) Abegg, R., Handb. d. anorg. Chemie III. Abt. 3, S. 528—583. Leipzig 1907. — [4]) Svedberg, T., Die Methoden zur Herstellung kolloider Lösungen anorg. Stoffe. Dresden 1909. — [5]) Foà, C., und A. Agazzotti, diese Zeitschr. 19, 1. 1909. — [6]) Berzelius, J. J., Kolloides Schwefelarsen. Lehrbuch der Chemie. 3. Aufl., S. 2—269. Dresden—Leipzig 1834. — [7]) Küster, F. W., und G. Dahmer, Zeitschr. f. anorg. Chemie 33, 105. 1920. — [8]) Müller, A., und P. Artmann, Österr. Chem.-Zeit. 7, 149. 1904. — [9]) Biltz, W., Zeitschr. f. physikal. Chem. 58, 288. 1907. — [10]) Sabbatani, L., Arch. d. fisiol. 13, 1. 1914. — [11]) Dumanski, A., Kolloid-Zeitschr. 9, 262. 1911. — [12]) Dumanski, A., Kolloid-Zeitschr. 8, 232. 1911. — [13]) Sabbatani, L., Pathologica 5, 1. 1913; diese Zeitschr. 59, 378. 1914. — [14]) Vannino, L., und F. Hartl, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 37, 3620. 1904. — [15]) Weigel, O., Zeitschr. f. physikal. Chem. 58, 293. 1907. — [16]) Zambelli, L., und E. Luzzato, Lavori dell' Istituto Chimico Farmac. della R. Univ. di Padova — a. a. 1885—1886. — [17]) Pasini, A., Monatshefte f. prakt. Dermatol. 40, 299. 1905. — [18]) Quattrini, M., Lo Sperimentale 69, 507. 1915. — [19]) Vitali, D., Boll. Chim. Farm. 32, 129. 1893. — [20]) Severi, A., Rif. med. 9, 386. 1893. — [21]) De Rey Peilhade, Cpt. rend. 108, 356. 1889. — [22]) Heffter, A., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 51, 175. 1904. — [23]) Sabbatani, L., Arch. internat. de pharmaco dyn. et de thérap. 18, 373. 1908. — [24]) Sabbatani, L., Volume per le onoranze a A. Bonome, S. 107. — Pathologica 1915. — [25]) Almkvist, I., Dermatol. Zeitschr. 19, 949. 1912. — [26]) Vitali, D., Boll. Chim. Farm. 32, 257. 1893. — [27]) Guareschi, I., Nuova Enciclopedia di Chimica 4, 415. Torino 1906. — [28]) Hillefeld, Experimenta quaedam circa venena. 1760 (Dictionaire de Physiologie de C. Richet 1, 677. 1895. Paris).

---

# Berichtigung zu meiner Mitteilung: „Über die Bedeutung des respiratorischen Quotienten usw.[1]".

Von

**S. Weiss**, derzeit in New-York.

(Aus dem Physiolog.-chemischen Institut der Universität Budapest.)

*(Eingegangen am 17. Mai 1921.)*

In Anschluß an die Besprechung der Versuchsergebnisse wird in meiner Arbeit auf die Bewertung des respiratorischen Quotienten während der Muskelarbeit in den Fundamentalversuchen von Benedict und Cathcart reflektiert, wobei jedoch alle übrigen hochbedeutsamen Ergebnisse der genannten Autoren unberührt bleiben. Nun hatte sich aber in meine Mitteilung, ein Irrtum eingeschlichen, auf den ich von Herrn Prof. Benedict in liebenswürdigster Weise aufmerksam gemacht wurde und den ich wie folgt berichtigen will.

Meine Tabelle XI (S. 25) trägt im 3. Stab des Kopfes die unrichtige Aufschrift: „die Lungenventilation gesteigert usw.", während es richtig heißen soll: „die Atemfrequenz gesteigert usw.". Da die Veränderung der Atemfrequenz und die der Lungenventilation nicht gleichgesetzt werden können, und auch am gesunden Menschen keine strenge Proportionalität zwischen beiden zu bestehen braucht, fehlt auch der sichere Untergrund für meine Erörterungen über die B. und C.-schen Ergebnisse, so daß ich jene, wenigstens in der dort mitgeteilten Form, nicht aufrechthalten kann.

Es seien auch zwei belanglose Druckfehler in meiner Arbeit, die jedoch sinnstörend sind, richtiggestellt. Auf S. 24 Zeile 17 von unten soll es statt „mehrere Ruheversuche Arbeitsversuchen . . ." umgekehrt heißen: „mehreren Ruheversuchen Arbeitsversuche . . ." Ferner soll es auf S. 26 erste Zeile von oben statt „$3^1/_4$fach" richtig heißen „$9^1/_4$fach".

[1]) Diese Zeitschr. **101**, 7—32. 1919.

# Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

XLV. Mitteilung.

Von

**Leon Asher.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

## Die Reaktion von schilddrüsenlosen und thymuslosen Kaninchen auf den Wärmestich.

Von

**Werner Nyffenegger.**

*(Eingegangen am 20. Mai 1921.)*

Mit 9 Abbildungen im Text.

Der große Einfluß, den die Schilddrüse auf Stoffwechselvorgänge hat, ist durch zahlreiche Untersuchungen sichergestellt. Da jedoch verschiedene Tiere sich in dieser Hinsicht nicht gleich verhalten, war die Erkenntnis dieser Beziehungen nicht immer leicht.

Wenn aber die richtigen Methoden aufgesucht werden und besonders die gegenseitigen Beziehungen der Drüsen mit innerer Sekretion nicht außer acht gelassen werden, treten auch bei Tieren, die sonst wenig von dem Einfluß der Schilddrüse auf den Stoffwechsel erkennen lassen, die Symptome des Schilddrüsenausfalles in charakteristischen Störungen des Stoffwechsels deutlich zutage. Im Berner physiologischen Institut sind in letzter Zeit von solchen Gesichtspunkten ausgehend, die Beziehungen der Schilddrüse zum Stoffwechsel am Kaninchen, einem Tiere, welches bis dahin wenig geeignet zur Untersuchung der Schilddrüsenfunktion galt, aufgedeckt worden.

Hauri (diese Zeitschr. 98, 1. 1919), der das Verhalten der $CO_2$- und $H_2O$-Ausscheidung am schilddrüsen- und milzlosen Kaninchen bei normaler

und erhöhter Außentemperatur mit Hilfe einer neuen Methode untersuchte, fand, daß das schilddrüsenlose Kaninchen bei jeder Temperatur einen geringeren respiratorischen Stoffwechsel hatte als das normale. Noch bemerkenswerter aber war die Entdeckung, daß die Wärmepolypnöe bei Außentemperatur von 33° beim schilddrüsenlosen Tiere sehr viel weniger ausgesprochen war wie beim normalen.

Ruchti knüpfte an Hauris Arbeiten an, um die Tatsache aufzuklären, daß die Schilddrüsenausfallssymptome am Kaninchen, die von Hauri beobachtet waren, nur temporäre sind. Es gelang ihm, den Sachverhalt dahin zu erklären, daß er fand, daß bei Wegnahme der Thymus neben derjenigen der Schilddrüse die Ausfallssymptome am Kaninchen zu dauernden und zu sehr viel ausgesprocheneren werden. Hiermit war der erste gesicherte Nachweis des Zusammenwirkens von Schilddrüse und Thymus am ausgewachsenen Tiere erbracht. Zugleich war aber auch die Erklärung gegeben, warum das bloß der Schilddrüse beraubte Tier keine ausgesprochenen Dauersymptome gibt. In Ruchtis Versuchen trat in sehr schöner Weise die Erscheinung zutage, daß die der Schilddrüse und der Thymus beraubten Tiere sehr viel weniger auf Temperaturerhöhung reagieren wie normale.

Diese Tatsachen nun regen an, von neuem von einer jetzt gesicherten Basis ausgehend, die Beziehung der Schilddrüse zur Temperaturregulierung zu prüfen.

Solche Beziehungen sind schon von Boldyreff (Einfluß des Schilddrüsenapparates auf die Wärmeregulierung bei Hunden) untersucht worden. Während er aber bei Hund und Katze Störungen der Wärmeregulation nachweisen konnte, war er beim Kaninchen nicht in der Lage, es zu tun. Ich will auf die Boldyreffschen Untersuchungen hier nicht eingehen, weil sie in Anlage und Methodik ganz anders waren als meine Untersuchungen, die am Kaninchen ausgeführt wurden und dort zu positiven Ergebnissen führten.

In einer gewissen Beziehung zur Temperaturregulierung stehen die im Berner physiologischen Institut ausgeführten Arbeiten von Streuli und Messerli, welche eine viel geringere Empfindlichkeit des schilddrüsenlosen Kaninchens gegen Sauerstoffmangel nachwiesen.

Die neuen von Hauri und Ruchti gefundenen Tatsachen geben neue Aussichten, den Einblick in die Beziehungen zwischen Temperaturregulierung und Drüsen mit innerer Sekretion, insbesondere Schilddrüse und Thymus, zu erweitern. Angesichts der Erfahrung, daß die Wärmepolypnöe bei schilddrüsenlosen, noch mehr bei schilddrüsen- und thymuslosen Kaninchen wesentlich vermindert ist, entsteht die Frage, ob diese Veränderung durch andere Methoden auch erkennbar wird und ob sie auf einer

Umstimmung des zentralen Temperatur regulierenden Apparats und ihrer peripheren Angriffsorte beruht. Im Wärmestich besitzen wir ein sehr brauchbares Mittel, um am Kaninchen die besagten Fragen in Angriff zu nehmen, und ich folgte daher der Anregung von Professor Asher, die Reaktion normaler, schilddrüsenloser, thymusloser und schilddrüsen- und thymusloser Kaninchen auf den Wärmestich zu prüfen.

Der Wärmestich am normalen Tier ist ein vielfach bearbeiteter Gegenstand. Die ältere Literatur findet sich ausführlich in der umfassenden Arbeit von H. Ito unter Kroneckers Leitung im Berner Physiologischen Institut. Die seither erschienenen Arbeiten beziehen sich entweder auf die Genese der Temperatursteigerung (beispielsweise die Arbeiten von Sinelnikow, Streeraths) oder auf den Wirkungsmechanismus des nervösen Apparates und seine feinere Lokalisation (Arbeiten von Krehl, Isenschmidt und deren Mitarbeiter) oder auf die Beziehungen zwischen Wärmezentrum, Fieber und Fieberbekämpfung (Arbeiten derSchule von Hans Horst Meyer und H. Cloetta). Diese Arbeiten haben in bedeutsamer Weise unsere Kenntnis der Wärmeregulation erweitert und sie enthalten zahlreiche Aufschlüsse, die bei meinen Versuchen verwertet werden mußten. Auch die methodischen Fortschritte dieser Arbeiten habe ich verwertet. Die Arbeiten von Mark Aisenstat am Goulis Institut und Henry G. Barbour haben die Technik des Wärmestichs so weit durchgearbeitet, daß wohl keine wesentlichen Schwierigkeiten mehr bestehen. Erst nach Abschluß dieser Arbeit erhielt ich Einsicht in die kurze Mitteilung von Otto Loewi (Loewi, O. und Weselko, Zentralbl. f. Physiol. 1914, S. 197), der bei schilddrüsenlosen Kaninchen den Wärmestich ausführte. Prinzipiell ist sein Ergebnis das gleiche wie das meinige, jedoch ist der Gesichtspunkt und Durchführung meiner Untersuchung wohl mit der von Loewi nicht übereinstimmend.

Was die Methodik meiner Arbeit anlangt, so habe ich den Wärmestich genau nach der im Berner Institut üblichen Weise, wie sie von Ito, Sinelnikow und Streerath (letzterer unter Benutzung der Arbeit von Aisenstat) ausgeführt.

In jedem Fall, wo die Trepanation ausgeführt werden mußte, wurde in Lokalanästhesie mit 5 ccm 2 proz. Novocain operiert. Bei nachfolgenden Stichen am gleichen Tier bedurfte es nur der Öffnung einer kleinen Haut-

naht. Beim ersten Stich und bei allen nachfolgenden achtete ich auf peinlichste Asepsis oder Antisepsis. Da ich dem Plan der Arbeit gemäß am gleichen Tier mehrfache Stiche auszuführen hatte, wurde der einzelne Wärmestich so schonend wie möglich gemacht, immerhin aber so ausgiebig, daß der Erfolg gesichert war. Die kleine, vorn stumpfe Piqurenadel wurde langsam eingestochen, bis sie ohne Druck aufruhte und dann einmal um ihre Längsachse gedreht. Dort, wo das gleiche Tier erst im normalen Zustand, dann nach Entfernung der Schilddrüse oder Schilddrüse und Thymus untersucht werden sollte, habe ich die eine Hirnseite benutzt, um zweimal den Wärmestich auszuführen, dann nach der Operation die andere Hirnseite.

Von der, meiner Arbeit vorausgegangenen. des Herrn Dr. Ruchti standen mir einige Tiere ohne Schilddrüse und Thymus zur Verfügung, die ich benutzt habe. Bei diesen war das Verhalten gegenüber dem Wärmestich im normalen Zustand unbekannt. Ich habe es mir zur Aufgabe gemacht, meine Hauptversuche an solchen Tieren anzustellen, bei denen ich zunächst den Verlauf der Temperatur im unversehrten Zustand durch öftere Messungen tagsüber feststellte, um die für das betreffende Tier charakteristische Normaltemperaturkurve zugrunde legen zu können. Die Temperatur wurde in der üblichen Weise mit einem guten Geisslerschen Thermometer im Rektum gemessen. Sobald die Normalkurve vorlag, wurde der Wärmestich ausgeführt, zweimal in einem solchen Intervall, daß die Folgen des ersten Wärmestichs vollständig abgeklungen waren. Darauf folgten die Operationen, Entfernung der Schilddrüse, der Thymusdrüse oder beider. Über das Operationsverfahren enthalte ich mich einer Beschreibung, da diese in den Arbeiten von Hauri und Ruchti gegeben wurde. Nachdem so viel Zeit verstrichen war, um etwaige Folgen der Operation an sich abklingen zu lassen, wurden wiederum Temperaturkurven aufgenommen, um das Verhalten der Tiere im neuen Zustand kennenzulernen. Erst dann wurden, wiederum unter Einhaltung der obgenannten Intervalle, die entscheidenden Wärmestiche gemacht.

Die Ergebnisse meiner Versuche habe ich in Protokollen und in Kurven wiedergegeben. Namentlich die letzteren geben eine so anschauliche Darstellung des Sachverhaltes, daß es nur einer kurzen Übersicht über die Hauptpunkte meiner Ergebnisse bedarf.

Die normalen Tiere zeigten in meinen Versuchen Schwankungen der Tagestemperatur, die im allgemeinen einen halben Grad nicht überschritten. Der Wärmestich, der bei richtiger Aus-

führung unfehlbar wirkt, ruft eine maximale Temperatursteigerung von $1^1/_2$° und mehr hervor. Die Wirkung klingt erst nach mehreren Stunden ab. Wenn man eine Anzahl von Tieren genau in den ersten Zeiten nach dem Stich verfolgt, trifft man auf Individuen, welche zuerst mit einer kleinen Temperatursenkung reagieren, worauf dann die Steigerung einsetzt. Gelegentlich kommt es vor, daß ein Tier Folgeerscheinungen nach dem Stich zeigt, die sogar zum Tode führen können. Derartige Tiere scheiden aus der Betrachtung aus; ich gebe in meinen Protokollen auch von diesen Zufällen Belege. Der Ort des Stiches und der sonstige Befund wurde in den gelungenen und nicht gelungenen Fällen durch die Sektion festgestellt.

Nach der Entfernung der Schilddrüse und des Thymus, wie auch nach der gleichzeitigen Entfernung beider Organe, ändert sich der Verlauf der normalen Temperaturkurve nicht. Diese Behauptung gilt für die Verhältnisse meiner Versuche, wo die Temperaturmessungen unter möglichst denselben Bedingungen, was Ernährung und Tierhaltung betrifft, angestellt wurden. Nach dem, was wir jetzt schon von der Beziehung der beiden Drüsen zur Temperaturregulation wissen, kann erwartet werden, daß unter geeigneter Abänderung der Versuchsbedingung auch der Verlauf der Temperaturkurve ein abweichender sein kann. Sobald der Wärmestich ausgeführt wird, tritt der Unterschied zwischen den normalen und den operierten Tieren zutage. Die operierten Tiere verhielten sich gegenüber dem Wärmestich durchaus abweichend von den normalen. Meine Versuche an den Kaninchen 7, 8, 9 und 10 (siehe Prokotolle und Kurven) zeigen dasjenige, worauf es ankommt, am deutlichsten. Es kommt nach dem Wärmestich wohl zu einer Wärmesteigerung, aber diese beträgt im Maximum nicht mehr wie 0,5—0,6°. Außerdem ist der ganze Verlauf der Temperatursteigerung ein äußerst abgekürzter. In denjenigen Fällen, wo das normale Tier primär mit einer Temperatursenkung reagiert, ist diese Temperatursenkung beim schilddrüsenlosen Tier viel stärker ausgeprägt. Auf diese Tatsache scheint mir Gewicht gelegt werden zu müssen. Denn erstens beweist sie, daß die vorher am gleichen normalen Tier beobachtete Temperatursenkung kein Zufallsprodukt war, sondern in den konstitutionellen Verhältnissen des Tieres begründet war. Zweitens aber beweist sie, daß eine wirkliche Umstimmung des Tieres

infolge des Organverlustes eingetreten ist, die nicht bloß in einer geringeren Temperatursteigerung — für die man an eine durch Wiederholung verminderte Reaktionsfähigkeit denken könnte, die ich allerdings durch meine Versuche glaube ausgeschlossen zu haben — sondern auch in einer stärkeren Temperatursenkung. Offenbar besteht ein Zusammenhang zwischen diesen beiden Erscheinungen.

Die veränderte Reaktion auf den Wärmestich tritt auf nach bloßer Entfernung der Schilddrüse. Meine Befunde sind die gleichen, wie sie Loewi in seiner oben genannten kurzen Veröffentlichung mitteilt. Aber auch nach bloßer Entfernung der Thymus ließ sich die verringerte Reaktion des Tieres auf Wärmestich nachweisen. Ob bei denjenigen Tieren, bei denen ich sowohl die Schilddrüse wie die Thymusdrüse entfernt hatte, die Herabsetzung der Reaktion auf den Wärmestich noch größer war als bei den, nur eines dieser Organe beraubten Tiere, möchte ich auf Grund meiner Versuche nicht entscheiden. Dazu ist die Methodik nicht eine hinreichend quantitative. Aber daß die Herabsetzung der Reaktion auf den Wärmestich eine sehr ausgesprochene ist, geht unzweifelhaft aus meinen Versuchen hervor.

Um jedes Bedenken zu zerstreuen, daß der Wärmestich bei den operierten Tieren nur deshalb geringere Wirkungen hatte, weil die Tiere des Vergleichs wegen den Eingriff schon vorher durchgemacht hatten, weise ich auf diejenigen Versuche hin, wo erst die Operation und dann der Wärmestich ausgeführt wurde. Es sind das diejenigen Tiere, welche mir Herr Dr. Ruchti überlassen hatte. Gerade bei diesen, die also zum erstenmal dem Wärmestich unterzogen wurden, konnte die große Veränderung der Reaktion auf den Wärmestich sehr gut festgestellt werden.

Der Ausgangspunkt meiner Untersuchung war die von Hauri und Ruchti beobachtete verminderte Anspruchsfähigkeit schilddrüsenloser und namentlich schilddrüsenloser und thymusloser Kaninchen gegen erhöhte Temperatur. Die Tatsache, die ich gefunden habe, die geringere Reaktion auf den Wärmestich, soweit er die Temperaturerhöhung betrifft, steht mit den erstgenannten Beobachtungen im Einklang. Was die Schilddrüse anbetrifft, so reiht sich die verminderte Wärmebildung nach dem Wärmestich den sonstigen Erfahrungen über die Stellung der Schilddrüse im Stoffwechsel an und durfte erwartet werden. Daß auch die Weg-

nahme der Thymus in der gleichen Weise wirkt, ist ein neuer Beitrag zur Physiologie der Thymusdrüse. Ruchti, der die wichtige Beobachtung machte, daß die nur flüchtigen Stoffwechselveränderungen des nur seiner Schilddrüse beraubten Kaninchens zu lange Zeit andauern werden, wenn außerdem die Thymus entfernt wird, machte darauf aufmerksam, daß hiermit der erste experimentelle Beweis für das von Klinikern oft postulierte Zusammenwirken von Schilddrüse und Thymus geliefert sei. Die von mir mitgeteilten Tatsachen dürfen in dem gleichen Sinne gebraucht werden und erweitern die Lehre von dem Zusammenwirken von Schilddrüse und Thymus. Insofern gehen meine Beobachtungen über diejenigen von Ruchti hinaus, als schon die bloße Entfernung der Thymus gleichsinnig wirkt wie die Entfernung der Schilddrüse.

Bei dem Versuch, die Ergebnisse des Wärmestichs bei schilddrüsen- und thymuslosen Tieren zu erklären, muß vorserst darauf hingewiesen werden, daß der Unterschied zwischen diesen und den normalen Tieren ein sehr erheblicher quantitativer, aber nicht ein qualitativer ist. Das heißt, es tritt eine, wenn auch sehr verminderte Temperatursteigerung ein. Hieraus folgt, daß Fehlen von Schilddrüse und Thymus die Reaktion des Wärmestichs nicht vollständig aufhebt, sondern nur vermindert, demnach bei Vorhandensein dieser beiden Organe dieselben nicht der ausschließliche Ort zur Ermöglichung der Temperatursteigerung nach Wärmestich sind. Es besteht die Neigung — Mansfelds wichtige Versuche werden manchmal in diesem Sinne verwertet — das innere Sekret der Schilddrüse als den einzigen Vermittler der Wärmesteigerung auf Wärmestich zu betrachten. Meine Versuche sprechen entschieden gegen diese Auffassung, räumen der Schilddrüse nur eine Vorzugsstellung ein. Das Verbleiben der Temperatursteigerung geringeren Grades bei Fehlen der Schilddrüse läßt zwei Möglichkeiten der Erklärung offen. Entweder ist die Reaktion der Gewebe auf den Wärmestich bei Fehlen des inneren Sekretes der Schilddrüse geringer, weil ja überhaupt ihr Stoffwechsel infolge hiervon herabgesetzt ist. Oder es wird durch den Wärmestich noch eine andere Drüse mit innerer Sekretion zur vermehrten Absonderung gebracht, welches Sekret aber eine geringere aktivierende Kraft besitzt. Schließlich wäre noch daran zu denken, daß infolge Fehlens des inneren Sekretes der Schilddrüse die Reaktionsfähigkeit des Wärmezentrums selbst

gelitten habe. Das Zentralnervensystem ist, wie Professor Asher es in seinen Diskussionsbemerkungen anläßlich der Versammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte in Nauheim ausgedrückt hat, für die inneren Sekrete ein peripheres Gebilde, welches wie andere Gewebe unter dem Fehlen des Schilddrüsensekretes leiden kann. Meine Versuche gestatten nicht, zwischen den drei Erklärungsmöglichkeiten zu entscheiden.

Was die Beobachtungen an schilddrüsenlosen Tieren betrifft, sowie an schilddrüsen- und thymuslosen, so würden sie sich zureichend durch die Annahme erklären lassen, daß infolge der Trägheit des Stoffwechsels andere innere Sekrete, die durch den Wärmestich mobilisiert werden, eine geringere Wirkung entfalten. Hierbei wäre in erster Linie an das Adrenalin zu denken. Schwieriger ist das Verständnis der Herabsetzung der Wärmestiche bei den thymuslosen Tieren. Der Stoffwechsel derselben ist, wie die Untersuchungen Ruchtis gezeigt haben, nicht herabgesetzt. Was das Nervensystem anlangt, so wird bekanntlich auf Grund von Beobachtungen an jugendlichen Hunden die Ansicht vertreten, daß wenigstens das periphere Nervensystem übererregbar sei, während meine Beobachtungen eher für eine Untererregbarkeit des Nervensystems sprechen.

Die Hypothese, daß bei Fehlen der Thymus eine Aktivierung der Schilddrüse fortfällt, würde meine Beobachtung erklären und stände in gewisser Analogie zu den in Ruchtis Arbeit mitgeteilten Nachweis des Zusammenwirkens von Schilddrüse und Thymus.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse meiner Arbeit die nachfolgenden:

1. Mehrfacher Wärmestich am gleichen Kaninchen hat die nämliche Wirkung.

2. Bei Kaninchen, deren Reaktion auf den Wärmestich man im normalen Zustand durch den Versuch kennt, bewirkt die Entfernung der Schilddrüse eine ganz erhebliche Herabsetzung und Verkürzung der Wärmesteigerung auf Wärmestich.

3. Auch bloße Entfernung der Thymus, sowie von Thymus und Schilddrüse wirkt in gleicher Weise.

4. Bei solchen Kaninchen, bei denen die erste Wirkung des Wärmestichs eine Herabsetzung der Temperatur ist, wird nach Entfernung der genannten Organe die primäre Herabsetzung nach dem Wärmestich noch ausgeprägter.

5. Die Reaktion der schilddrüsenlosen Tiere auf den Wärmestich steht im Einklang sowohl mit des Tatsache der Herabsetzung des allgemeinen Stoffwechsels, sowie mit den Erfahrungen, daß die Temperaturregulierung zum Teil auf dem Wege der Schilddrüse stattfindet. Daß die Schilddrüse nicht das einzige, sondern nur das hauptsächlichste Organ ist, welches zum Zustandekommen der Wärmestichreaktion erforderlich ist, beweist das Erhaltensein einer geringfügigen Wärmestichreaktion.

6. Die Herabsetzung der Wärmestichreaktion nach Entfernung der Thymus ist ein neuer Beweis für ein Zusammenwirken von Schilddrüse und Thymus.

Kaninchen Nr. 1. Schwarz gefleckt.

Gewicht 1800 g.

Normaltemperatur.

| 10. X. 1919 | | | 11. X. 1919 | | | 13. X. 1919 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Außentemp. 14° C | | | Außentemp. 13½° C | | | Außentemp. 12° C | | |
| Vorm. | 11h | 38,75 | Vorm. | 9h | 39,00 | Vorm. | 10h | 39,00 |
| „ | 12h | 38,80 | „ | 10h | 38,90 | „ | 11h | 38,85 |
| Nachm. | 1h 30′ | 39,05 | „ | 11h | 38,6 | „ | 12h | 38,80 |
| „ | 2h 30′ | 38,85 | „ | 12h | 38,6 | Nachm. | 3h | 39,00 |
| „ | 3h 30′ | 38,90 | | | | „ | 5h | 39,25 |
| „ | 4h 30′ | 38,85 | | | | „ | 7h | 39,20 |
| „ | 6h | 38,90 | | | | | | |

Abb. 1.

**Wärmestich** am 15. X. vorm. $10^h$. Lokalanästhesie 5 ccm Novocain 1 proz. Es wird trepaniert, so daß die Sutura sagitalis und die Sutura coronaris die seitliche und caudale Begrenzung der Trepanationsöffnung bilden. Der Einstich erfolgt mit Piqurenadel 2 mm seitlich und 3 mm vor der Sagital- und der Coronanaht bis auf die Basis, hierauf wird die Nadel um 90° um ihre Achse gedreht. Die Operationswunde geschlossen.

Einige Sekunden nach dem Einstich, der auf der rechten Seite erfolgte, wird der Kopf krampfhaft auf die gesunde Seite gedreht. Die linken Extremitäten erscheinen gelähmt. Diese Symptome gehen aber innerhalb 3 Stunden fast restlos vorbei.

**Temperaturmessungen.**

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | $9^h$ | 39,1 | Nachm. | $4^h\ 45'$ | 40,62 | |
| „ | $10^h\ 15'$ | 39,0 | „ | $5^h\ 30'$ | 40,3 | Lähmungserscheinungen |
| „ | $11^h$ | 39,3 | „ | $6^h\ 15'$ | 40,7 | fast völlig zurück- |
| „ | $11^h\ 30'$ | 39,65 | „ | $7^h$ | 40,6 | gegangen. |
| „ | $12^h$ | 39,9 | „ | $10^h$ | 40,6 | |
| Nachm. | $1^h$ | 40,0 | | | | |
| „ | $1^h\ 30'$ | 40,1 | | | | |
| „ | $2^h$ | 40,35 | | | | |
| „ | $2^h\ 30'$ | 40,40 | | | | |
| „ | $3^h$ | 40,55 | | | | |
| „ | $3^h\ 30'$ | 40,5 | | | | |
| „ | $4^h$ | 40,6 | | | | |

Am nächsten Morgen war das Tier eingegangen. Bei der Sektion fand sich ein kleines basales Hämatom. Der Stich berührte die vordere mediale Seite des Corpus striatum.

**Maximaltemperatursteigerung 1,6° nach 8 Stunden.**

## Kaninchen Nr. 2, braun gefleckt.

Gewicht 1600 g.

**Normaltemperatur.**

| 10. X. 1919 | | | 13. X. 1919 | | | 14. X. 1919 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Außentemp. 14° C | | | Außentemp. 11° C | | | Außentemp. $14^1/_2$° C | | |
| Vorm. | $11^h$ | 38,75 | Vorm. | $10^h$ | 38,80 | Vorm. | $8^h$ | 39,00 |
| „ | $12^h$ | 38,90 | „ | $11^h$ | 38,75 | „ | $9^h$ | 38,90 |
| Nachm. | $1^h\ 30'$ | 38,90 | „ | $12^h$ | 38,80 | „ | $10^h\ 30'$ | 38,80 |
| „ | $2^h\ 30'$ | 38,80 | Nachm. | $3^h$ | 39,10 | „ | $12^h$ | 38,90 |
| „ | $3^h\ 30'$ | 38,70 | „ | $5^h$ | 39,30 | Nachm. | $3^h$ | 39,10 |
| „ | $4^h\ 30'$ | 38,65 | „ | $7^h$ | 39,20 | „ | $5^h$ | 39,30 |
| „ | $6^h$ | 38,60 | „ | | | „ | $7^h$ | 39,50 |

22. X. 1919. **Exstirpation der Thyreoidea und der Thymus.** Narkose mit 0,04 Morph. hydrochloric. subcutan. Hautschnitt. Die Thyreoidea wird stumpf ohne Ligatur von der Trachea mitsamt dem Isthmus losgelöst. Die Gefäße werden gequetscht. Die Recurrentes werden geschont.

Die Thymus wird nach Eröffnung ihrer Kapsel stumpf mit 2 flachen Pinzetten aus dem Mediastinum hervorgeholt, ihr Gewicht beträgt 1,75 g. Naht der Halsfascie durch fortlaufende Catgutknopfnaht. Haut mit Seidenknopfnähten geschlossen. Wundheilung p. p.

**Temperaturmessungen nach Ablauf der Reaktion.**

28. X. 1919

Außentemperatur $13^{1}/_{2}$ ° C

| | | |
|---|---|---|
| Vorm. | $9^h$ | 39,1 |
| „ | $10^h$ | 39,2 |
| „ | $12^h$ | 39,2 |
| Nachm. | $2^h$ | 39,3 |
| „ | $4^h$ | 39,1 |
| „ | $7^h$ | 39,2 |

29\. X. 1919. **Wärmestich.** Außentemperatur 14° C. Lokalanästhesie $1^{1}/_{2}$ ccm 1 proz. Novocain. An der bei Nr. 1 beschriebenen Stelle. Stich um $10^h$ 25′.

| | | |
|---|---|---|
| 30. X. | | |
| Vorm. | $9^h$ | 39,05 |
| „ | $10^h$ | 39,05 |
| „ | $10^h$ 25′ | Stich |
| „ | $11^h$ | 39,5 |
| „ | $12^h$ | 39,75 |
| Nachm. | $1^h$ | 39,80 |
| „ | $2^h$ | 39,90 |
| „ | $2^h$ 30′ | 39,70 |
| „ | $3^h$ 15′ | 39,62 |
| „ | $3^h$ 45′ | 39,60 |
| „ | $4^h$ 25′ | 39,80 |
| „ | $5^h$ 15′ | 39,80 |
| Nachm. | $6^h$ 15′ | 39,60 |
| „ | $7^h$ | 39,60 |
| 30. X. | | |
| Vorm. | $9^h$ | 39,40 |
| „ | $11^h$ 30′ | 39,35 |
| Nachm. | $1^h$ 15′ | 39,2 |
| „ | $4^h$ | 39,2 |
| „ | $6^h$ | 39,25 |
| 31. X. | | |
| Vorm. | $9^h$ 30′ | 38,90 |
| „ | $12^h$ | 38,9 |
| Nachm. | $3^h$ 45′ | 38,15 |
| „ | $5^h$ | 39,50 |

**Maximale Steigerung 1,0°.**

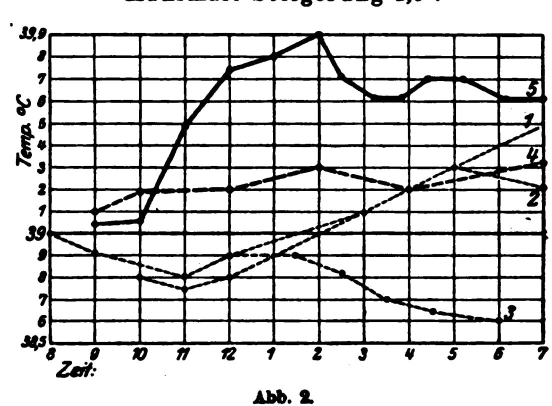



Abb. 2.

3\. XI. Nähte entfernt. Temp. $3^h$ 30′ nachm. 39,1°.

4\. XI. 1919. **Wärmestich.** Ausführung auf der symmetrischen Stelle rechts. Temperatur ante op. 38,9°. Kaninchen ist unruhig und blutet leicht. Kaubewegungen nach Ausführung des Stiches.

9h 45′ bis 9h 55′

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,9 | Außentemperatur 15° C. |
| „ | 10h | 38,3 | Temperatursenkung 0,6 . |
| „ | 10h 45′ | 38,5 | |
| „ | 11h 15′ | 38,75 | |
| „ | 12h | 39,30 | |
| Nachm. | 12h 45′ | 39,20 | |
| „ | 1h 30′ | 39,40 | |
| „ | 2h 45′ | 39,60 | Maximale Steigerung 0,7° nach $5^1/_2$ Stunden. |
| „ | 3h 30′ | 39,65 | |
| „ | 4h | 39,40 | |
| „ | 4h 45′ | 39,20 | |
| „ | 6h 30′ | 39,2 | |
| | 5. X. | | |
| Vorm. | 8h | 38,8 | |
| „ | 11h | 38,9 | |
| Nachm. | 3h | 39,0 | |
| „ | 6h | 39,2 | |

7. XI. Durch Verbluten getötet. Verlauf der Stichkanäle beidseitig in richtiger Weise auf den vorderen medianen Teil des Corpus striatum, links ist der Stichkanal durch eine kleine Blutung eingefaßt.

## Kaninchen Nr. 3. Schwarz ♀.

Gewicht 2,150 g.

Normaltemperatur 21. X. 1919.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,9 | Außentemperatur $14^1/_2$° C. |
| „ | 10h | 39,0 | |
| „ | 12h | 39,1 | |
| Nachm. | 3h 30′ | 39,35 | |
| „ | 5h 15′ | 39,3 | |
| „ | 7h | 39,3 | |

Wärmestich 22. X. 1919 an der gewohnten Stelle rechts 10h vorm.

Temperaturmessungen (Außentemperatur 16° C).

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,6 | | | 23. X. 1919 | |
| „ | 11h 15′ | 39,05 | | Vorm. | 9h | 39,65 |
| „ | 12h | 39,4 | | „ | 10h | 39,35 |
| Nachm. | 1h | 39,60 | | „ | 11h | 39,25 |
| „ | 1h 30′ | 39,50 | | „ | 12h | 38,85 |
| „ | 2h 15′ | 39,70 | | Nachm. | 3h | 39,00 |
| „ | 3h | 40,05 | | „ | 5h | 38,90 |
| „ | 4h 15′ | 40,25 | | | | |
| „ | 5h | 40,10 | | | | |
| „ | 6h | 39,80 | | | | |
| „ | 8h | 39,60 | | | | |
| „ | 10h | 39,55 | | | | |

Maximale Temperatursteigerung 1,65° nach 6 Stunden.

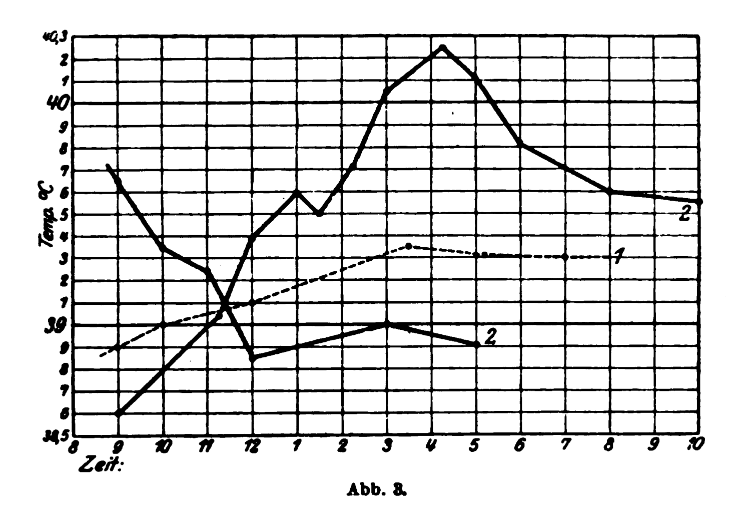



Abb. 8.

24. X. 1919. **Thyreoidektomie.** Allgemeinnarkose 0,04 Morph. subcutan. Exstirpation der Thyreoidea mit Ligatur der zuführenden Gefäße, Schonung der Recurrentes und der Nebenschilddrüse.

31. X. Zustand gibt zu Befürchtungen Anlaß. Exitus.

1. XI. Sektion des Gehirnes ergibt, daß der vordere mediane Teil des Corpus striatum getroffen wurde. Exitus an Pneumonie.

## Kaninchen Nr. 4. Schwarz.

Gewicht 1600 g.

Wurde durch Herrn **Ruchti** vor 2 Monaten thymektomiert.

**Normaltemperatur** 28. X. 1919 (Außentemperatur 14° C).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 39,2 | Nachm. | 4h | 39,4 |
| „ | 11h | 39,2 | „ | 6h | 39,3 |
| Nachm. | 1h | 39,5 | „ | 7h | 39,3 |

**Wärmestich** 29. X. 1919 (Außentemperatur 14° C). Ausführung in gewohnter Weise rechts 10h 40′ vorm. Kaninchen ist vollkommen normal, läuft herum, Kopfhaltung normal.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 10h | 39,1 | 30. X. 1919 | | |
| „ | 11h | 39,0 | Vorm. | 9h | 39,4 |
| „ | 12h | 39,3 | „ | 11h | 39,35 |
| Nachm. | 1h | 39,65 | „ | 12h | 39,4 |
| „ | 2h | 39,7 | Nachm. | 4h | 39,4 |
| „ | 3h | 39,6 | 31. X. 1919 | | |
| „ | 4h | 39,6 | Vorm. | 9h | 40,0 |
| „ | 5h | 39,6 | „ | 12h | 39,45 |
| „ | 7h | 39,7 | Nachm. | 2h 15′ | 39,70 |
| | | | „ | 5h | 40,00 |

**Maximale Temperatursteigerung** 0,6° nach 7 Stunden.

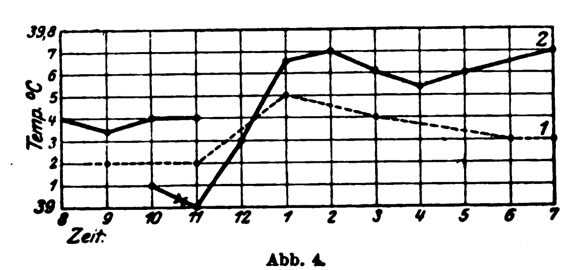



Abb. 4.

7. XI. 1919. Wärmestich wiederholt an der gleichen Stelle. Ca. 2 bis 3 Minuten nach dem Stiche wird das Kaninchen sehr unruhig. Da Verdacht auf Sinusblutung, wird das Kaninchen durch Verbluten getötet.

Bei der Sektion findet sich eine ausgedehnte Blutung, die beide Seitenventrikel auffüllt, ebenso den dritten und sich sogar im vierten nachweisen läßt. Das verletzte Gefäß kann nicht gefunden werden.

## Kaninchen Nr. 5. Braun ♂.

Gewicht 1880 g.

Kaninchen wurde am 2. X. 1919 durch Herrn Ruchti thymektomiert und thyreoidektomiert. Zustand ein guter. Sehr lebhaft, gesteigerter Geschlechtstrieb.

Normaltemperatur (Außentemperatur 13° C).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 39,1 | Nachm. | 3h | 39,3 |
| „ | 10h | 39,3 | „ | 5h | 39,3 |
| „ | 12h | 39,35 | „ | 7h | 39,4 |

3. XI. 1919. Ausführung des Wärmestichs an gewohnter Stelle mit Handtrepan, so daß die Zacken des Trepan die Sutura sagitalis und coronaria als mediale und caudale Begrenzung berühren. Wie der Knochen durchgesägt ist, dringt, verursacht durch eine ungeduldige, den Kopf nach oben schnellende Bewegung des Kaninchens, der Trepan senkrecht in die Tiefe, ca. $^1/_2$ cm ein; er wird sofort zurückgezogen. Hierauf in der gewohnten Weise mit der Piqurenadel Ausführung des Wärmestiches, Naht der operierten Wand durch fortlaufende Seidennaht. Ausführung 10h 30′.

Temperaturmessungen.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 10h | 38,6 | Außentemperatur 14° C. |
| „ | 11h | 36,5 | |
| „ | 12h | 36,0 | |
| Nachm. | 1h | 35,9 | |
| „ | 2h 30′ | 35,75 | Kaninchen ist sehr lebhaft; jedoch leicht benommen. |
| „ | 3h 15′ | 35,9 | Unruhig. Atmung und Puls normal. |
| „ | 4h | 36,0 | Keine Lähmungserscheinungen. |
| „ | 4h 45′ | 36,0 | Ohren kalt. |
| „ | 6h | 35,7 | |
| „ | 8h | 35,5 | |

4. XI. 1919

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 35,0 | Das Tier ist munter. Puls und Atmung sind völlig normal, frißt. |
| „ | 10h 30′ | 34,7 | |
| „ | 11h 45′ | 34,7 | |
| Nachm. | 12h 45′ | 34,6 | |
| „ | 2h 45′ | 34,2 | Ohren kalt. Tier leicht reizbar; rasche unruhige Bewegungen. |
| „ | 4h | 34,1 | |
| | 6h | 34,2 | |

5. XI. 1919

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h | 30,5 | Kaninchen sehr apathisch, Schlaflust. Atmung und Puls regelmäßig, Herzaktion schwach. |
| „ | 9h 45′ | 30,20 | |
| „ | 11h 15′ | 30,15 | |
| Nachm. | 1h | 29,9 | Maximale Senkung 9,4° C. |
| „ | 3h | 29,5 | |
| „ | 5h | 29,2 9,4° | |

6. XI. 1919. Exitus. Sektion: Erweichungsherd in der Gegend des Wärmezentrums rechts sowie Thrombose der Basilargefäße.

## Kaninchen Nr. 6. Aschgrau ♀.

Gewicht 1860 g.

Thymektomiert durch Herrn Ruchti.

Normaltemperaturen.

31. X. 1919

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. 9h | 39,1 | | Nachm. | 3h | 39,3 |
| „ 11h | 39,15 | | „ | 5h | 39,3 |
| „ 12h | 39,3 | | „ | 7h | 39,45 |

Wärmestich 4. XI. 1919. Ausführung in gewohnter Weise auf der rechten Seite. Zeit 9h 30′.

Temperaturmessungen.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h 45′ | 39,2 | |
| „ | 10h | 38,7 | Anfängliche Temperatursenkung 0,50°. |
| „ | 10h 30′ | 39,1 | |
| „ | 11h 10′ | 39,3 | |
| „ | 11h 55′ | 39,3 | |
| Nachm. | 12h 45′ | 39,5 | |
| „ | 2h 30′ | 39,6 | |
| „ | 3h 30′ | 39,7 | Maximale Steigerung 0,5° in 6 Stunden. |
| „ | 4h 10′ | 39,45 | |
| „ | 5h | 39,4 | |
| „ | 6h | 38,9 | |

5. XI. 1919

| | | |
|---|---|---|
| Vorm. | 10h | 38,75 |

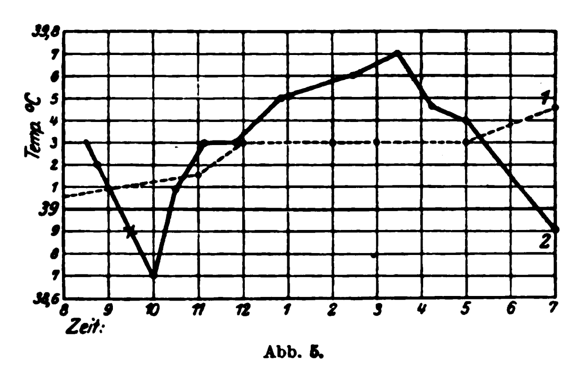



Abb. 5.

6. XI. Durch Verbluten getötet. Verlauf des Stichkanals auf der rechten Seite in den vorderen medianen Teil des Corpus striatum, mit kleiner Blutung im unteren Drittel des Stichkanals.

## Kaninchen Nr. 7. Aschgrau ♂.

Gewicht 1980 g.

Normaltemperaturen (Außentemperatur 15° C).

4. XI. 1919

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,8 | Nachm. | 3h | 39,0 |
| „ | 10h 30′ | 38,9 | „ | 5h | 39,1 |
| „ | 12h | 39,10 | „ | 6h 30′ | 39,2 |

Wärmestich 5. XI. vorm. 9h. Ausführung wie gewöhnlich. Trepanation, so daß die Zacken des Trepans die Coronar- und Sagitalnaht als caudale und mediale Begrenzung berühren. Die Dura wird zwischen den beiden sichtbaren, dem Sinus senkrecht zustrebenden Gefäßen gespalten und die Piqurenadel langsam etwas nach vorn gerichtet ca. 2 mm links der Sagittalnaht bis auf die Basis eingeführt.

| Temperatur. | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h 30′ | 38,9 | Trepanat 9h, das Tier ist munter, |
| „ | 10h | 39,3 | einige Kaubewegungen. |
| „ | 10h 30′ | 39,3 | Keine Lähmungserscheinungen. |
| „ | 11h 05′ | 39,4 | Es frißt. |
| „ | 11h 45′ | 39,6 | Außentemperatur 14° C. |
| Nachm. | 12h 45′ | 39,8 | |
| „ | 1h 35′ | 39,9 | |
| „ | 2h 35′ | 39,85 | |
| „ | 3h 15′ | 39,9 | Maximale Steigerung 1,25 |
| „ | 4h 05′ | 40,15 | nach $6^1/_2$ Stunden. |
| „ | 4h 45′ | 39,8 | |
| „ | 6h | 39,3 | |
| „ | 7h | 39,1 | |

6. XI. 1919. Erneuter Wärmestich an derselben Stelle, mit etwas caudal gerichteter Piqurenadel.

Temperatur.

| | | |
|---|---|---|
| Vorm. | 9h 15′ | 38,7 |
| „ | 9h 45′ | 38,8 |
| „ | 10h 30′ | 39,4 |
| „ | 11h | 39,5 |
| „ | 11h 45′ | 39,55 |
| Nachm. | 12h 45′ | 39,80 |
| „ | 1h 30′ | 39,95 |
| „ | 2h | 40,10 |
| „ | 7h 30′ | 39,5 |
| 7. XI. 1919 | | |
| Vorm. | 8h 45′ | 39,4 |
| „ | 10h 30′ | 38,9 |
| „ | 11h 45′ | 38,8 |

Ausführung des Stiches 9h 40′.

Maximale Steigerung 1,4° in 4½ Stunden.

Außentemperatur 15° C.

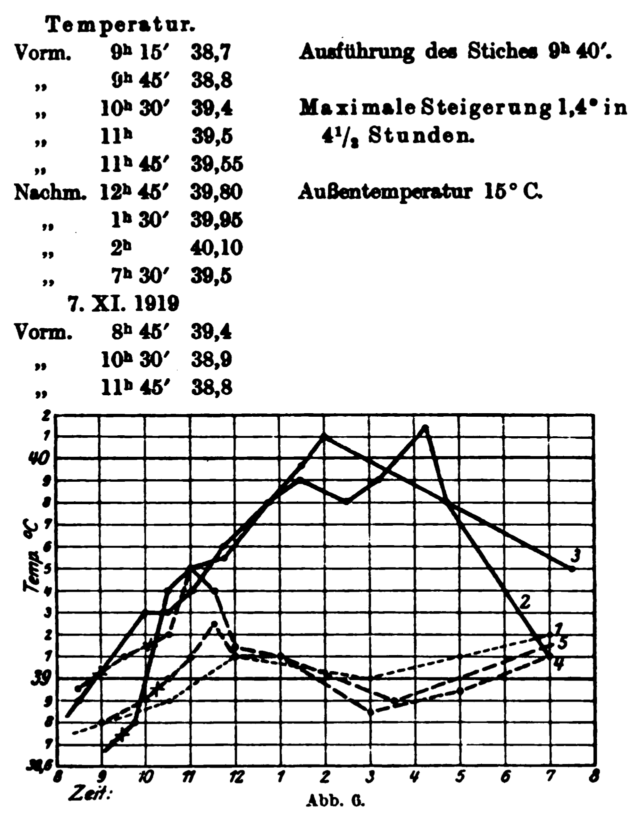



Abb. 6.

8. XI. 1919 vorm. 9h. Ausführung der Thyreoidektomie unter Schonung der Recurrentes und größeren Gefäße. Operation ohne Ligaturen. Die Drüse kann sehr schön in toto herausgeschält werden.

10. XI. 1919. Kaninchen frißt, ist munter.

11. XI. Temperaturkurve (Außentemperatur 14° C).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h 30′ | 38,9 | Nachm. | 3h | 39,15 |
| „ | 10h 15′ | 39,0 | „ | 6h | 39,20 |
| „ | 12h | 39,0 | | | |

Wärmestich 12. XI. 1919. Trepanat. genau symmetrisch, auf der rechten Seite der Sutura sagitalis. Spaltung der Dura, Einführen der Piqurenadel symmetrisch den früheren Stichen etwas nach vorn gerichtet.

Temperaturkurve (Außentemperatur 13° C).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h 30′ | 38,95 | Vorm. | 12h | 39,15 |
| „ | 9h 30′ | 39,10 | Nachm. | 1h | 39,1 |
| „ | 10h 15′ | Stich | „ | 3h | 38,85 |
| „ | 10h 30′ | 39,20 | „ | 5h | 38,95 |
| „ | 11h | 39,50 | „ | 7h | 39,10 |
| „ | 11h 30′ | 39,40 | | | |

**Wärmestich 13. XI. 1919.** An derselben Stelle wie gestern in genau gleicher Ausführung.

Temperaturkurve (Außentemperatur 14° C).

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,8 | |
| „ | 10h | 38,9 | |
| „ | 10h 15′ | Wärmestich | |
| „ | 10h 30′ | 39,0 | |
| „ | 11h | 39,1 | Friert an den hinteren Extremitäten. |
| „ | 11h 30′ | 39,25 | |
| „ | 12h | 39,1 | |
| Nachm. | 12h 50′ | 39,1 | |
| „ | 3h 30′ | 38,9 | |
| „ | 6h | 39,1 | |

**Sektion:** Der vordere mediane Teil des Corpus striatum ist beiderseits getroffen.

## Kaninchen Nr. 8. Schwarzgrau ♂.

Gewicht 2000 g.

Normaltemperatur.

8. XI. 1919

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,6 | Nachm. | 1h | 38,7 |
| „ | 10h 30′ | 38,6 | „ | 3h 30′ | 38,75 |
| „ | 12h | 38,65 | „ | 6h | 38,8 |

**Wärmestich 10. XI. vorm. 9h 35′.** Ausführung in gewohnter Weise, so daß die Zacken des Trepan die Sagital- und Coronarnaht als mediane und caudale Begrenzung berühren. Piqurenadel $1^1/_2$ mm lat. und 2 mm vor der Sagital- und Coronarnaht leicht nach vorne geneigt eingeführt, sofort nach Berührung der Schädelbasis zurückgezogen. Hautnaht mit Catgut. Collod. Verband.

Das Tier war während der ganzen Operation sehr ruhig. Nach der Operation vollkommen munter. Frißt.

Temperaturkontrolle.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 10. XI. 1919 | | | Nachm. | 5h | 39,80 |
| Vorm. | 8h | 38,7 | „ | 5h 45′ | 39,8 |
| „ | 9h 35′ | Operation | „ | 6h 30′ | 39,6 |
| „ | 9h 45′ | 38,8 | „ | 7h 15′ | 39,4 |
| „ | 10h 45′ | 39,7 | 11. XI. | | |
| „ | 11h 20′ | 39,8 | Vorm. | 8h 30′ | 39,1 |
| „ | 11h 55′ | 39,8 | „ | 10h 20′ | 39,25 |
| Nachm. | 12h 50′ | 39,9 | „ | 11h 45′ | 39,25 |
| „ | 2h 30′ | 40,0 | Nachm. | 3h | 39,1 |
| „ | 3h 15′ | 40,1 | „ | 5h | 39,05 |
| „ | 3h 50′ | 39,8 | „ | 7h | 38,9 |
| „ | 4h 15′ | 39,75 | | | |

**Temperaturmaximum nach 6 Stunden. Maximale Steigung 1,4°.**

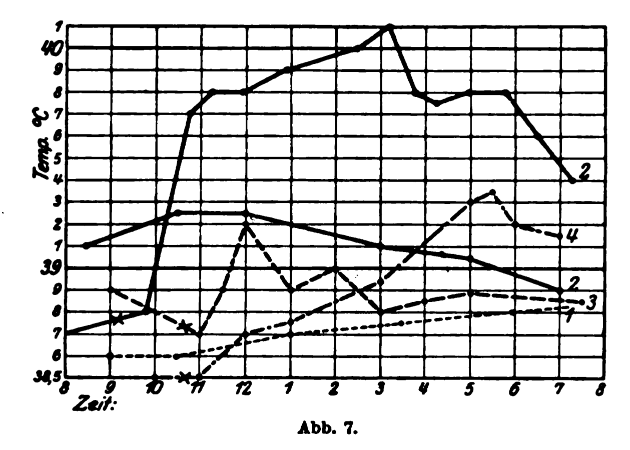



Abb. 7.

12. XI. Thyreoidektomie in Allgemeinnarkose. Morph. hydrochl. 0,04 subcutan. Schonung der Gefäße und der Nervi recurrentes. Die Drüse kann nicht ganz radikal entfernt werden, auf der rechten Seite bleibt ein kleines Stück des Oberhornes, das starke Verwachsungen aufweist.

Wärmestich 18. XI. in gewöhnlicher Ausführung. Es wird auf der linken Seite trepaniert. Stichrichtung leicht nach vorn geneigt, zwischen den beiden auf der Dura leicht sichtbaren Gefäßen.

Temperaturkontrolle.

Bei der ersten Messung ist Kaninchen etwas aufgeregt.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,9 | Nachm. | 4h | 38,85 |
| „ | 10h 45′ | Stich | „ | 5h | 38,90 |
| „ | 11h 05′ | 38,70 | „ | 7h 30′ | 38,85 |
| „ | 11h 35′ | 38,90 | 19. XI. 1919 | | |
| „ | 12h | 39,2 | Vorm. | 9h | 38,70 |
| Nachm. | 1h | 38,9 | „ | 11h | 38,60 |
| „ | 2h | 39 | Nachm. | 3h | 38,6 |
| „ | 3h | 38,8 | | | |

20. XI. 1919. Temperatur vorm. 10h 38,6°. Erneuter Wärmestich auf der linken Seite, an derselben Stelle mit genau gleichgeführter Nadel. Ein leichter Hirnprolaps in der Trepanationsöffnung. Stich 10h 45′.

Temperaturmessungen.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 10h | 38,5 | Nachm. | 6h | 39,20 |
| „ | 11h | 38,5 | „ | 7h | 39,15 |
| „ | 12h | 38,7 | 21. XI. 1919 | | |
| Nachm. | 12h 45′ | 38,75 | Vorm. | 8h | 38,8 |
| „ | 3h | 38,95 | „ | 10h | 39,9 |
| „ | 5h | 39,30 | „ | 12h | 39,1 |
| „ | 5h 30′ | 39,35 | | | |

Sektion: Corpus striatum beiderseits median und vorn getroffen.

## Kaninchen Nr. 9. Schwarz ♂.

**Gewicht 2200 g.**

**Normaltemperatur.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h | 38,90 | Nachm. | 2h | 39,2 |
| „ | 10h | 39,05 | „ | 5h | 39,3 |
| „ | 11h 30′ | 39,10 | „ | 7h | 39,4 |

**17. XI. 1919.** **Wärmestich links in gewohnter Ausführung, Dura zwischen 2 dem Sinus zustrebenden Gefäßen gespalten. Stichrichtung ca. 5° nach vorne geneigt. Einstich bis zur Basis mit Piqurenadel. Zeit 10h 15′.**

**Außentemperatur 16° C.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 38,8 | Nachm. | 3h | 40,4 |
| „ | 10h | 38,8 | „ | 3h 30′ | 40,3 |
| „ | 10h 45′ | Operation | „ | 4h | 39,9 |
| „ | 11h | 39,3 | „ | 4h 30′ | 39,85 |
| „ | 12h | 39,5 | „ | 5h | 39,8 |
| Nachm. | 1h | 39,9 | „ | 7h | 39,6 |
| „ | 1h 30′ | 39,8 | 18. XI. 1919 | | |
| „ | 2h | 40,0 | Vorm. | 9h | ,39,2 |
| „ | 2h 30′ | 40,1 | | | |

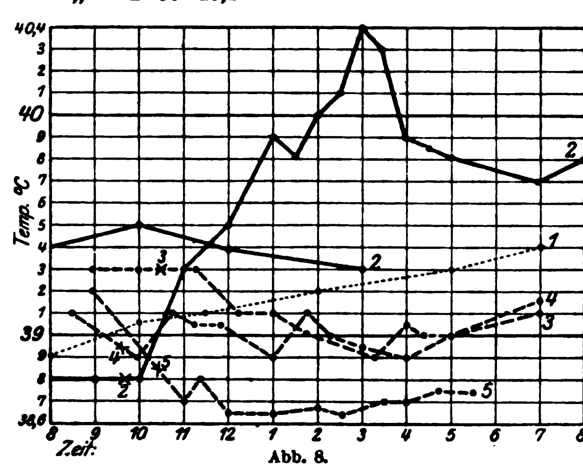



Abb. 8.

**18. XI. 1919 nachm. 2h. Thyreoidektomie und Thymektomie in Allgemeinnarkose. Morph. hydrochl. 0,04 subcutan. Operation unter Schonung der Gefäße, Nerven und Nebenschilddrüse, stumpf, mit 2 Pinzetten Keine Ligaturen.**

**25. XI. 1919. Operationswunden gut geheilt. Tier befindet sich wohl. Ausführung des Wärmestichs an derselben Stelle, wie vor der Thyreoidektomie in genau gleicher Ausführung und Richtung. Tier während der ganzen Operation sehr ruhig. 10h 30′.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9$^h$ | 39,3 | Nachm. | 1$^h$ 45′ | 39,0 |
| „ | 10$^h$ | 39,3 | „ | 2$^h$ 50′ | 38,0 |
| „ | 10$^h$ 30′ | Operation | „ | 3$^h$ 25′ | 38,9 |
| „ | 10$^h$ 45′ | 39,3 | „ | 3$^h$ 55′ | 39,05 |
| „ | 11$^h$ 25′ | 39,3 | „ | 4$^h$ 25′ | 39,0 |
| Nachm. | 12$^h$ 15′ | 39,1 | „ | 5$^h$ | 39,0 |
| „ | 1$^h$ | 39,1 | „ | 7$^h$ | 39,1 |

**27. XI. 1919.** Trepanation auf der rechten Seite symmetrisch und Wärmestich, die Piqurenadel wird 2 mal in etwas verschiedener Richtung eingeführt, das eine Mal leicht nasal. Die Dura wurde zwischen den beiden gut sichtbaren dem Sinus zustrebenden Gefäßen eröffnet (9$^h$ 45′).

Temperaturmessungen.

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8$^h$ 30′ | 39,1 | | Nachm. | 2$^h$ 15′ | 39,6 |
| „ | 9$^h$ 45′ | Operation | | „ | 3$^h$ | 38,95 |
| „ | 10$^h$ | 38,9 | A.-T. 15° C | „ | 4$^h$ | 38,9 |
| „ | 10$^h$ 45′ | 39,1 | Kaninchen | „ | 5$^h$ | 39,0 |
| „ | 11$^h$ 15′ | 39,05 | fröstelt | „ | 7$^h$ | 39,15 |
| Nachm. | 12$^h$ | 39,05 | | | | |
| „ | 1$^h$ 45′ | 39,1 | | | | |

Wiederholung des Stiches an gleicher Stelle in derselben Stichrichtung **28. XI. 1919.** Bei Ausführung des Stiches (es wurden wieder 2 Stiche ausgeführt) macht das Kaninchen leichte Kaubewegungen.

Temperaturmessungen.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9$^h$ | 39,2 | Nachm. | 12$^h$ 45′ | 38,6 |
| „ | 10$^h$ 30′ | Stich | „ | 1$^h$ 55′ | 38,65 |
| „ | 11$^h$ | 38,7 | „ | 2$^h$ 35′ | 38,60 |
| „ | 11$^h$ 25′ | 38,8 | „ | 3$^h$ 25′ | 38,70 |
| „ | 11$^h$ 55′ | 38,6 | „ | 4$^h$ | 38,70 |
| | | | „ | 4$^h$ 45′ | 38,75 |

**29. XI.** Sektion. Das Corpus striatum rechts ist durch 2 Stiche getroffen, dasselbe ist links unverletzt. Die Stiche liegen $^1/_2$ mm zu weit außen.

## Kaninchen Nr. 10. Schwarz ♂.

Gewicht 2270 g.

Normaltemperaturen.

20. X. 1919

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8$^h$ | 38,7 | Nachm. | 1$^h$ | 38,8 |
| „ | 10$^h$ | 38,8 | „ | 3$^h$ | 38,9 |
| „ | 12$^h$ | 38,75 | „ | 5$^h$ | 38,95 |
| | | | „ | 7$^h$ | 39,10 |

**21. X. 1919.** Wärmestich links in gewohnter Weise. Spaltung der Dura zwischen den beiden dem Sinus zustrebenden Gefäßen. Piqurenadel $1^1/_2$ mm rechts vom Sinus leicht nach vorne geneigt bis zur Basis eingeführt.

**Temperaturmessungen.**

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | $9^h$ | 38,7 | Nachm. | $12^h$ | 39,15 |
| „ | $10^h$ | 38,7 | „ | $1^h$ | 39,20 |
| „ | $10^h$ 15′ | Stich | „ | $2^h$ | 39,2 |
| „ | $10^h$ 30′ | 38,5 | „ | $2^h$ 30′ | 39,2 |
| „ | $11^h$ | 38,85 | „ | $3^h$ | 39,0 |
| „ | $11^h$ 30′ | 39,0 | „ | $4^h$ | 39,0 |
| | | | „ | $5^h$ | 38,9 |

22. X. Vormittag $9^h$ 39,5.

24. X. 1919 vormittags $10^h$ 20′ 38,9. Erneuter Wärmestich an derselben Stelle ca. 2 mm von der Sutura in leicht nach vorne geneigter Richtung $10^h$ 45′.

Außentemperatur $15^1/_2$° C

| | | | |
|---|---|---|---|
| Vorm. | $10^h$ | 38,70 | |
| „ | $11^h$ 20′ | 39,0 | |
| „ | $11^h$ 45′ | 39,45 | |
| Nachm. | $12^h$ | 39,75 | |
| „ | $12^h$ 45′ | 39,85 | |
| „ | $1^h$ 25′ | 39,9 | |
| „ | $1^h$ 55′ | 40,0 | |
| „ | $2^h$ 35′ | 39,95 | aufgeregt. |
| „ | $3^h$ 10′ | 40,15 | |
| „ | $3^h$ 45′ | 40,20 | |
| „ | $4^h$ 45′ | 40,25 | |
| „ | $5^h$ 20′ | 40,30 | |
| „ | $5^h$ 45′ | 40,15 | |
| „ | $6^h$ 30′ | 39,95 | |

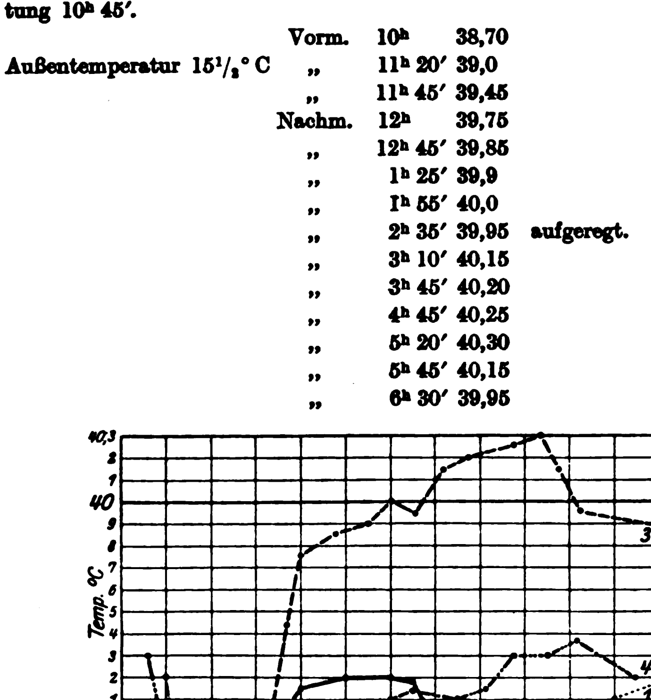



Abb. 9.

25. XI. 1919. Thyreoidektomie und Thymektomie in Allgemeinnarkose, Morph. hydrochl. 0,04 subcutan. Schonung der Gefäßnerven

und Parathyreoideae. Lösung stumpf mit 2 Spritzen anatom. Pinzetten. Thymus wird nach Eröffnung ihrer Kapsel herausgezogen.

4. XII. 1919. Wärmestich links in gewohnter Ausführung. Trepanation und Stich symmetrisch den früheren.

Temperaturmessungen (Außentemperatur 17° C).

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 8h 30′ | 39,3 | Nachm. | 1h 30′ | 39,05 |
| „ | 9h 15′ | Stich | „ | 2h 30′ | 39,15 |
| „ | 9h 30′ | 38,5 | „ | 3h 30′ | 39,1 |
| „ | 10h | 39,0 | „ | 4h 05′ | 39,15 |
| „ | 10h 30′ | 38,95 | „ | 4h 45′ | 39,30 |
| „ | 10h 50′ | 38,90 | „ | 5h 30′ | 39,3 |
| „ | 11h 20′ | 38,80 | „ | 6h 15′ | 39,35 |
| „ | 12h 30′ | 38,90 | „ | 7h 30′ | 39,2 |

Wärmestich 6. XII. an derselben Stelle.

Temperaturmessungen.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Vorm. | 9h | 39,25 | Vorm. | 11h 30′ | 39,05 |
| „ | 9h 15′ | Wärmestich | „ | 12h | 39,0 |
| „ | 9h 30′ | 38,6 | Nachm. | 1h | 39,0 |
| „ | 10h | 39,0 | „ | 2h | — |
| „ | 10h 45′ | 39,0 | „ | 3h | 39,3 |

12. XII. Tod durch Verbluten.

Sektion. Stichkanäle beidseitig symmetrisch in den vorderen Teil des Corpus striatum verlaufend.

---

## Literatur.

Aisenstadt, M., Arch. f. Anat. u. Physiol. 1909, S. 475. — Barbour, H. G., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 70, 1. 1912. — Barbour, H. G. und E. S. Wing, Journal of pharmacol. a. exp. therapeut. 5, Nr. 2. 1913. — Cloetta, M. u. E. Waser, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 73, 436. 1913. — Gaule, J., Festschrift der Dozenten der Universität Zürich, 1914. — Hashimoto, M., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 78, 370. 1915. — Hashimoto, M., Ibid. 78, 394. 1915. — Hauri, O., diese Zeitschr. 98, H. 1, 2, 3, S. 1. 1919. — Isenschmid, K., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 75, 11. 1913. — Isenschmid und Krehl, Ibid. 70, 109. 1912. — Ito, Zeitschr. f. Biol. S. 63. — Loewi, O. und Weselko, Zentralbl. f. Physiol. 1914, S. 197. — Lüthy, A., Inaug.-Diss. Basel 1917. — Meyer, H. H., Verhandl. d. dtsch. Kongr. f. inn. Med., Wiesbaden 1913, S. 15. — Ruchti, E., diese Zeitschr. 105, H. 1—3, S. 1. 1920. — Sinelnikow, E., Arch. f. Anat. u. Physiol. 1910, S. 279. — Streerath, E., Ibid. 1910, S. 295. — Würth, W., Inaug.-Diss. Leipzig 1912.

# Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

## XLVI. Mitteilung.

Von

**Leon Asher.**

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

## Die Wirkung des Schilddrüsenhormons bei gestörtem Kohlehydratstoffwechsel durch Phlorrhizindiabetes.

Von

**Walter Horrisberger.**

Mit 6 Abbildungen im Text.

*(Eingegangen am 20. Mai 1921.)*

Die Schilddrüsensubstanz steigert den Grundumsatz sehr erheblich. Es ist dabei in neueren Untersuchungen nachgewiesen worden, daß dadurch der Glykogengehalt der Leber stark herabgesetzt wird, d. h. daß das Glykogen mobilisiert wird.

So zeigten Cramer und Krause[1]), daß nach Verfütterung von frischer Schilddrüse sowohl bei Katzen als auch bei Ratten der Glykogengehalt der Leber auf ein Minimum reduziert wird. Dasselbe wurde für die weiße Ratte nachgewiesen von S. Kuriyama[2]) und von M. Parhon[3]) für das Kaninchen. Ebenso hat J. Abelin[4]) dies kürzlich wieder für die weiße Ratte bewiesen. Bei einigen Tieren fand sich überhaupt kein Glykogen mehr in der Leber vor. Dagegen hat M. Parhon[1]) für das Kaninchen gezeigt, daß das Glykogen in den Muskeln nicht vermindert wird.

Cramer[5]) betrachtet die Stoffwechselwirkung der Schilddrüsenstoffe als eine Folge der vielseitigen Wechselbeziehungen, die zwischen der Schild-

---

[1]) Proc. of the roy. soc. 86. 1913.

[2]) Americ. Journ. of physiol. 43, 481. 1917.

[3]) Journ. de physiol. et de pathol. gen. 15, 76. 1913.

[4]) Diese Zeitschr. 102, 39. 1920.

[5]) Cramer und Mitarbeiter, Quart. Journ. of exp. physiol. 1917, 1918, 1919; Journ. of physiol. 1916.

drüse und der Nebenniere bestehen. Er nimmt an, daß infolge des durch die Schilddrüsenfütterung veränderten Verhaltens des Nebennierenapparates die Körperzellen in erhöhtem Maße Kohlenhydrate verbrennen. Eine fortwährend erhöhe Verarbeitung von Kohlenhydraten muß natürlich zu einer Glykogenmobilisation aus der Leber führen. Ein Glykogenschwund aus der Leber und ein gesteigerter Verbrauch von Zucker bedeutet eine Herabsetzung der eiweißsparenden Wirkung der Kohlenhydrate. Es muß daher bei einem solchen Zustand nach einiger Zeit auch das Eiweiß in Mitleidenschaft gezogen werden. Die Erhöhung des Eiweißstoffwechsels ist somit nach Cramer das Sekundäre und nicht das Primäre. Die ganze Auffassung basiert auf dem veränderten Glykogehbestand des Organismus, d. h. also: Der erhöhte Kohlehydratumsatz der Zellen und der Glykogenschwund bilden den Kernpunkt der Stoffwechselerhöhung durch Schilddrüsensubstanz.

Die Frage, in welcher Weise durch Schilddrüsensubstanz sich der Grundumsatz ändert, wenn durch einen experimentellen Diabetes die Kohlenhydratdepots aus dem Organismus verschwinden oder vermindert worden sind, habe ich einer Anregung von Professor Asher folgend, experimentell an der weißen Ratte untersucht. Es wurde ein Phlorrhizindiabetes erzeugt, wodurch die Kohlenhydrate fast völlig aus dem Körper ausgetrieben werden. [Vide hierüber besonders die zusammenfassende Arbeit von Graham Lusk[1])]. Die wichtigste hierbei zu untersuchende Frage war, ob die durch Schilddrüsenzufuhr veranlaßte Stoffwechselsteigerung irgendwie beeinflußt wird.

## Methodik.

Zur Ermittlung des Grundumsatzes wurde der respiratorische Gaswechsel bestimmt, und zwar nach der Methode von Haldane[2]). Diese von Asher und seinen Schülern besonders für die weiße Ratte ausgebaute Methode ist von Danoff in dieser Zeitschrift ausführlich erörtert worden[3]), ebenso z. T. ergänzt worden durch J. Abelin[4]), so daß ich nicht auf sie einzugehen brauche.

Experimenteller Diabetes wurde hervorgerufen mit Phlorrhizin von Merck in Darmstadt. Bloße subcutane oder intravenöse Injektionen von Phlorrhizin zeigen nun eine starke, aber nur sehr kurzdauernde Glykosurie. Um nun aber eine starke und doch möglichst andauernde Phlorrhizinglykosurie zu erzeugen, wurde die Methode von Coolen angewandt [siehe[1]) S. 329]: 1 g feinpulverisiertes Phlorrhizin wird in 7 ccm

[1]) Über Phlorrhizinglykosurie. Ergebn. d. Physiol. **12**, 315ff. 1912.
[2]) Journ. of physiol. **13**, 419. 1892.
[3]) Diese Zeitschr. **93**, 44. 1919.
[4]) Diese Zeitschr. **101**, 200. 1920.

Olivenöl suspendiert. Dieses Gemisch wurde durch 2stündiges Erhitzen im Wasserbade auf ca. 65° C sterilisiert. Die milchigweiße Flüssigkeit wird subcutan injiziert. Dabei hat sich als beste Dosis für die weißen Ratten erwiesen: 0,05 g Phlorrhizin — d. h. 0,35 ccm von obiger Suspension — etwa alle 2—3 Tage gegeben. Bei dieser Methode finden wir noch am 3. Tage nach einer Injektion von 0,05 eine unvermindert starke Glykosurie. Es beruht diese Methode von Coolen jedenfalls darauf, daß, solange etwas vom injizierten Öle an der Stelle der Injektion zersetzt wird, Phlorrhizin in die Blutbahn abgegeben wird. Die Resorption des Öles durch den Organismus geschieht nun aber sehr langsam. Es tritt hier also auch keine Überschwemmung des Blutes mit Phlorrhizin ein.

Die Schilddrüsenwirkung wurde hervorgerufen durch die „Tabloid" Thyreoid gland von Bourroughs Wellcome & Co., London. (Vgl. J. Abelin, diese Zeitschr. 101, 223: Beeinflussung des Gaswechsels der Ratte durch Schilddrüsenfütterung.) Jede Tablette — große — enthält 0,3 g trockener Schafschilddrüse. Die weißen Ratten ertragen diese Schilddrüsentabletten gut.

Auch die kombinierte Einwirkung von Phlorrhizin und Schilddrüsentabletten überstehen die Ratten gut, sehr gut sogar für einen so schweren Eingriff. Nur glaube ich aus meinen Beobachtungen schließen zu dürfen, daß dabei eine äußerst reichliche Flüssigkeitszufuhr nötig ist. Die Ratte I verlor ich wahrscheinlich, weil ich diese Vorsichtsmaßregel noch nicht genügend beachtet habe. Die Normaltiere fraßen im allgemeinen nur ihre Milchbrocken — die gewöhnliche Nahrung — und ließen das dargereichte Wasser stehen. Sowie sie aber Phlorrhizin oder Schilddrüse oder beides zusammen erhalten haben, entwickelten die Tiere einen fast unlöschbaren Durst. Den Ratten II und III habe ich deshalb immer genügend Flüssigkeit hingestellt und diese beiden Ratten haben den ganzen Versuch äußerst gut überstanden. Ratte III war trotz der geradezu ungeheuren Steigerung des respiratorischen Gaswechsels nie in einem beängstigenden Zustande; man merkte ihr auch in den kritischsten Tagen nicht viel an, höchstens zeigte sie hier und da Anflüge vom Cheyne-Stokesschen Atemtypus.

Die Flüssigkeitsdurchschwemmung hat zudem noch den Vorteil, daß der Zucker besser ausgeschwemmt wird. Die Tiere geben im Vergleiche zur Norm kolossale Urinmengen ab. Trotzdem weist dieser Urin eine sehr starke Zuckerkonzentration auf.

Durch die Flüssigkeitsdurchschwemmung werden zudem auch die Stoffwechselendprodukte, die ja entsprechend der Stoffwechselsteigerung vermehrt gebildet werden, rascher hinausbefördert, so daß Störungen durch Retention von Stoffwechselprodukten vermieden werden.

## Versuche.

Die drei Versuchsreihen wurden in etwas verschiedener Form ausgeführt. In der ersten Versuchsreihe wurde zunächst der Grundumsatz bei experimentellem Phlorrhizin-Diabetes untersucht. In

## Versuchsreihe I.

### Tabelle I. Ratte I (Männchen).

| Nr. des Versuches | Datum 1920 | Schilddrüsentabl. v. Bourroughs, Wellcome & Co. à Stück | Phlorrhizininjektion (subcutan) abends in g | Totale $H_2O$-Bildung g | Totale $CO_2$-Bildung g | Totale $O_2$-Bildung g | R.-Q. | R.-Q. Mittelwert der einz. Versuchsperiod. | $CO_2$ pro Kilogramm und Stunde | $O_2$ pro Kilogramm und Stunde | Mittelwerte der einz. Versuchsperioden $CO_2$ g | Mittelwerte der einz. Versuchsperioden $C_2$ g | %-Steigerung gegenüber dem Mittelwert der Normalperiode $CO_2$ | %-Steigerung gegenüber dem Mittelwert der Normalperiode $O_2$ | Gewicht der Ratte am Ende des Versuches g | Dauer des Versuches Stunden | Temp. des Raumes °C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 18. V. | — | — | 0,50 | 2,84 | 2,20 | 0,938 | | 2,50 | 1,94 | | | — | — | 324,4 | 3 1/2 | 22 |
| 2 | 19. V. | — | — | 0,80 | 3,22 | 2,60 | 0,900 | | 2,41 | 1,95 | | | — | — | 333,5 | 4 | 22 1/2 |
| 3 | 20. V. | — | — | 0,90 | 3,56 | 2,90 | 0,944 | | 2,34 | 1,90 | | | — | — | 338,6 | 4 1/2 | 22 1/2 |
| 4 | 21. V. | — | — | 0,78 | 3,05 | 2,52 | 0,879 | 0,880 | 2,24 | 1,85 | 2,33 | 1,94 | — | — | 341,0 | 4 | 22 1/2 |
| 5 | 22. V. | — | — | 0,67 | 3,09 | 2,74 | 0,819 | | 2,30 | 2,04 | | | — | — | 336,1 | 4 | 22 |
| 6 | 24. V. | — | — | 0,46 | 1,86 | 1,63 | 0,829 | | 2,24 | 1,97 | | | — | — | 331,8 | 2 1/2 | 22 |
| 7 | 25. V. | — | 0,05 | 0,55 | 2,21 | 1,89 | 0,849 | | 2,29 | 1,96 | | | — | — | 322,2 | 3 | 22 |
| 8 | 26. V. | — | — | 0,61 | 2,04 | 2,01 | 0,737 | | 1,93 | 1,90 | | | — | — | 302,9 | 3 1/2 | 23 |
| 9 | 27. V. | — | 0,05 | 1,22 | 2,35 | 2,23 | 0,766 | | 2,01 | 1,91 | | | — | — | 312,2 | 3 3/4 | 24 |
| 10 | 28. V. | — | 0,025 | 0,90 | 2,08 | 2,03 | 0,744 | | 1,76 | 1,71 | | | — | — | 296,7 | 4 | 24 |
| 11 | 29. V. | — | — | 1,34 | 2,18 | 2,19 | 0,723 | | 1,74 | 1,75 | | | — | — | 290,2 | 4,3 | 24 |
| 12 | 31. V. | — | 0,05 | 0,98 | 2,92 | 2,97 | 0,714 | 0,746 | 2,14 | 2,19 | 1,99 | 1,93 | −14,6% | −0,5% | 301,4 | 4 1/2 | 23 |
| 13 | 1. VI. | 1 | 0,05 | 0,78 | 2,31 | 2,29 | 0,733 | | 2,04 | 2,02 | | | | | 290,8 | 4 | 22 |
| 14 | 2. VI. | 2 | — | 0,85 | 2,31 | 2,33 | 0,720 | | 2,10 | 2,12 | | | — | — | 275,3 | 4 | 22 |
| 15 | 3. VI. | 2 | 0,025 | 0,67 | 1,91 | 1,91 | 0,726 | | 1,91 | 1,91 | | | — | — | 249,9 | 4 | 22 1/2 |
| 16 | 4. VI. | 2 | — | 1,18 | 2,39 | 2,14 | 0,811 | | 2,10 | 1,88 | | | — | — | 239,9 | 4 3/4 | 22 1/2 |
| 17 | 5. VI. | — | 0,05 | 0,56 | 2,10 | 1,94 | 0,786 | | 2,20 | 2,03 | | | — | — | 239,1 | 4 | |
| — | 6 † | — | — | — | — | — | — | | — | — | | | — | — | — | — | — |

der zweiten Reihe wurde der Grundumsatz bestimmt bei gleichzeitiger Einwirkung von Schilddrüsentabletten und Phlorrhizin. In der dritten Reihe endlich wurde zunächst nur der Einfluß von Schilddrüsensubstanz auf den Grundumsatz geprüft; bei dessen voller Wirkung wurde nun Phlorrhizin injiziert, und dann beim nunmehrigen Fehlen von Kohlenhydratdepots nochmals der Einfluß von Schilddrüsensubstanz auf den Grundumsatz geprüft.

Bei dieser Ratte wurde zunächst der normale Grundumsatz ermittelt. Hierauf wurde Phlorrhizin nach der Methode von Coolen injiziert, und zwar durchschnittlich alle 2—3 Tage 0,05 g Phlorrhizin. Die Glykosurie war während der ganzen Dauer des Versuches eine enorme (s. Tab. I).

Aus diesem Versuche ergibt sich nun folgendes — wie man besonders deutlich aus der graphischen Darstellung ersehen kann —:

1. Die $CO_2$-Abgabe pro Stunde und pro Kilogramm Körpergewicht (berechnet nach der Formel):

$$\frac{1000 \cdot (\text{gemessene g } CO_2)}{(\text{Stundendauer des Versuches}) \cdot (\text{g Körpergewicht})}$$

sinkt etwas: von 2,33 g auf 1,99 g (vgl. Abb. 1).

2. Die $O_2$-Aufnahme pro Stunde und pro Kilogramm Körpergewicht (Formel analog $CO_2$) bleibt sich gleich: 1,94 g und 1,93 g (vgl. Abb. 1).

Abb. 1.

Diese zwei Punkte beweisen uns für die späteren Versuche, daß nicht etwa Phlorrhizin selbst schon eine Steigerung des Grundumsatzes erzeugt, sondern vielmehr eine kleine Verminderung ergibt.

3. Der respiratorische Quotient sinkt, wie es zu erwarten ist, und zwar im vorliegenden Falle von 0,880 auf 0,746 (vgl. Abb. 2).

Nachdem dieses festgestellt war, erhielt die Ratte Schilddrüsentabletten. Bevor aber die Wirkung eintreten konnte, ging das Tier unter krampfartigen Zuckungen zugrunde. Dabei zeigte diese Ratte während des ganzen Versuches, besonders aber in

### Versuchsreihe II.

### Tabelle II. Ratte II (Weibchen).

| Nr. des Versuches | Datum 1920 | Schilddrüsentabl. v. Bouroughs, Wellcome & Co. à Stück | Phlorrhizininjektion (subcutan) abends g | Totale $H_2O$-Bildung g | Totale $CO_2$-Bildung g | Totale $O_2$-Bildung g | R.-Q. | R.-Q. Mittelwerte d. einz. Versuchsperioden | $CO_2$ pro Kilogramm und Stunde g | $O_2$ pro Kilogramm und Stunde g | Mittelwerte der Normalversuchsperiode $CO_2$ g | Mittelwerte der Normalversuchsperiode $O_2$ g | %-Steigerung gegenüber Mittelwert der Normalversuchsperiode $CO_2$ | %-Steigerung gegenüber Mittelwert der Normalversuchsperiode $O_2$ | Gewicht der Ratte g | Dauer des Versuchs Std. | Temp. des Raumes °C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 18 | 29. VI. | — | — | 0,41 | 1,98 | 1,88 | 0,765 | | 3,21 | 3,05 | | | — | — | 205,6 | 3 | 22 |
| 19 | 30. VI. | — | — | 0,49 | 2,75 | 2,62 | 0,763 | | 3,32 | 3,17 | | | — | — | 206,9 | 4 | 20 1/2 |
| 20 | 1. VII. | — | — | 0,73 | 3,28 | 3,24 | 0,735 | | 3,49 | 3,45 | | | — | — | 208,7 | 4 1/2 | 22 |
| 21 | 2. VII. | — | — | 0,44 | 3,25 | 3,85 | 0,891 | | 2,99 | 2,44 | | | — | — | 217,6 | 5 | 22 |
| 22 | 3. VII. | — | — | 0,63 | 3,06 | 2,96 | 0,751 | | 2,90 | 2,80 | | | — | — | 211,2 | 5 | 22 |
| 23 | 4. VII. | — | — | 0,75 | 2,89 | 2,76 | 0,695 | 0,769 | 2,90 | 3,03 | 3,09 | 2,93 | — | — | 199,4 | 5 | 22 1/2 |
| 24 | 5. VII. | — | — | 1,14 | 3,24 | 2,93 | 0,803 | | 2,90 | 2,62 | | | — | — | 212,9 | 5 1/4 | 24 |
| 25 | 6. VII. | — | — | 1,17 | 5,03 | 4,63 | 0,789 | | 3,11 | 2,86 | | | — | — | 221,9 | 7,3 | 23 |
| 26 | 7. VII. | — | — | 0,73 | 3,90 | 3,69 | 0,768 | | 2,99 | 2,82 | | | — | — | 218,1 | 6 | 23 |
| 27 | 8. VII. | 1 | 0,025 | 1,52 | 4,03 | 4,04 | 0,725 | | 3,05 | 3,06 | | | — | — | 218,1 | 6 | 23 1/2 |
| 28 | 9. VII. | 1 | — | 0,98 | 3,75 | 3,72 | 0,732 | | 2,87 | 2,84 | | | — | — | 201,2 | 6 1/2 | 23 |
| 29 | 10. VII. | 2 | 0,025 | 1,62 | 3,94 | 4,22 | 0,678 | | 2,80 | 3,00 | | | — | — | 187,4 | 7 1/2 | 24 |
| — | 11. VII. | — | — | — | — | — | — | | — | — | | | — | — | — | — | — |
| 30 | 12. VII. | — | — | 1,55 | 4,07 | 4,37 | 0,677 | | 3,06 | 3,32 | | | — | — | 202,3 | 6 1/2 | 23 |
| 31 | 13. VII. | 2 | 0,05 | 1,74 | 3,43 | 3,31 | 0,753 | | 4,44 | 4,29 | | | — | — | 193,2 | 4 | 23 |
| 32 | 14. VII. | 1 | — | 0,85 | 3,89 | 3,97 | 0,712 | | 5,20 | 5,30 | | | +68,3% | +80,9% | 187,4 | 4 | 23 |
| 33 | 15. VII. | — | — | 1,94 | 4,89 | 5,32 | 0,668 | | 3,86 | 4,20 | | | — | — | 181,1 | 7 | 24 |
| 34 | 16. VII. | 3 | 0,025 | 1,28 | 3,46 | 3,58 | 0,702 | 0,701 | 3,08 | 3,19 | — | — | — | — | 187,0 | 6 | 24 |
| 35 | 17. VII. | 2 | 0,025 | 1,49 | 5,38 | 5,31 | 0,736 | | 3,54 | 3,49 | | | — | — | 196,3 | 7 3/4 | 24 |
| — | 18. VII. | — | — | — | — | — | — | | — | — | | | — | — | — | — | — |
| 36 | 19. VII. | — | 0,05 | 2,68 | 5,34 | 5,66 | 0,685 | | 3,44 | 3,64 | | | — | — | 182,8 | 8 1/2 | 24 1/2 |
| 37 | 20. VII. | 2 | — | 1,13 | 5,55 | 5,63 | 0,711 | | 5,55 | 5,67 | | | +79,6% | +93,5% | 181,8 | 5 1/2 | 25 |
| 38 | 21. VII. | — | — | 2,49 | 4,73 | 4,91 | 0,700 | | 3,70 | 3,84 | | | — | — | 189,6 | 6 3/4 | 24 |
| 39 | 22. VII. | — | — | 1,11 | 2,52 | 2,74 | 0,668 | | 3,67 | 3,99 | | | — | — | 183,0 | 3 3/4 | 25 |
| 40 | 23. VII. | — | — | 1,67 | 3,82 | 3,93 | 0,706 | | 4,03 | 4,15 | | | — | — | 188,5 | 5 | 25 |
| 41 | 24. VII. | — | — | 1,35 | 5,60 | 5,80 | 0,695 | | 4,31 | 4,47 | | | — | — | 185,4 | 7 | 24 1/2 |

den letzten Tagen, eine sehr beträchtliche und sehr rasche Gewichtsabnahme (vide Tab. I). Das Tier wollte nicht mehr recht fressen, was ich alles zur Hauptsache dem Flüssigkeitsmangel zuschreibe, wie ich schon erwähnt habe.

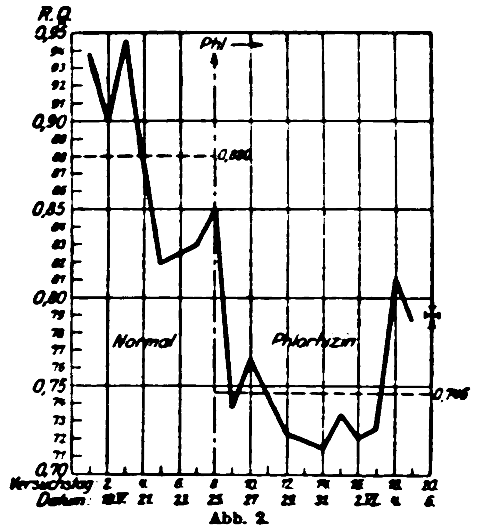


Abb. 2.

Zunächst wurde der normale Grundumsatz dieser Ratte (s. Tab. II) ermittelt. Hierauf wurde sofort an die Lösung der eigentlichen Versuchsaufgabe geschritten. Dem Tiere wurde Phlorrhizin injiziert, und zwar vorerst nur 0,025 g, weil diese Ratte ziemlich kleiner war als die vorige, und deshalb vielleicht nicht die gleiche Dosis ertragen konnte. Die Glykosurie war deswegen doch enorm. Zur gleichen Zeit wurde aber auch mit der Fütterung von Schilddrüsensubstanz begonnen. Da die Wirkung sich erst etwa am 3. Tage oder sogar später einstellt [J. Abelin[1])] (vide auch Versuchsreihe III), so war nicht zu befürchten, daß die Resultate zunächst durch den am 1. und 2. Tage evtl. noch vorhandenen Zucker getrübt würden. — Der Ratte wurde dann noch 5 mal injiziert in Abständen von 2—3 Tagen, so daß die Glykosurie eine dauernde war. Zugleich erhielt das Tier Schilddrüsentabletten, im ganzen 14 Stück. Zum Teil wurden sie in größeren Intervallen gegeben; wir sehen die Schwankungen dieser Fütterung in den Versuchsresultaten getreulich wiedergegeben.

Aus dieser zweiten Versuchsreihe ersehen wir folgendes:

1. Die $CO_2$-Abgabe wird trotz dem Fehlen der Kohlenhydrate durch Schilddrüsensubstanz gesteigert bis 68,3% resp. 79,6% (vgl. Abb. 3).

2. Ebenso wird die $O_2$-Aufnahme gesteigert um 80,9% resp. 93,5% (vgl. Abb. 3. Das Bild ist fast genau das gleiche. Aber die

[1]) Diese Zeitschr. 101, 223.

Versuchsreihe III.

Tabelle III. Ratte III (Weibchen).

| Nr. des Versuchs | Datum 1920 | Schilddrüsentabl. v. Bourroughs Wellcome & Co. à Stück | Phlorrhizininjektion (subcutan) abends g | Totale $H_2O$-Bildung g | Totale $CO_2$-Bildung g | Totale $O_2$-Bildung g | R. Q. | R. Q. Mittelwerte der einzelnen Versuchsperioden | $CO_2$ pro Kilogramm und Stunde g | $O_2$ pro Kilogramm und Stunde g | Mittelwerte der normalen Versuchsperioden $CO_2$ g | Mittelwerte der normalen Versuchsperioden $O_2$ g | %-Steigerung gegenüber dem Mittelwerte der normalen Versuchsperiode $CO_2$ | %-Steigerung gegenüber dem Mittelwerte der normalen Versuchsperiode $O_2$ | Gewicht der Ratte g | Dauer des Versuches Stunden | Temp. des Raumes °C |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 42 | 23. IX. | — | — | 0,57 | 2,30 | 2,18 | 0,706 | | 2,71 | 2,57 | | — | — | — | 212,0 | 4 | 21 |
| 43 | 24. IX. | — | — | 0,54 | 2,40 | 2,10 | 0,830 | | 2,71 | 2,87 | | — | — | — | 221,5 | 4 | 20 |
| 44 | 25. IX. | — | — | 0,70 | 2,56 | 2,46 | 0,756 | | 2,88 | 2,77 | | — | — | — | 222,3 | 4 | 20 |
| — | 26. IX. | — | — | — | — | — | — | 0,771 | — | — | 2,68 | 2,47 | — | — | — | — | — |
| 45 | 27. IX. | — | — | 0,38 | 2,04 | 1,94 | 0,764 | | 2,31 | 2,20 | | | — | — | 220,4 | 4 | 20¹/₂ |
| 46 | 28. IX. | — | — | 0,70 | 2,85 | 2,21 | 0,772 | | 2,68 | 2,48 | | | — | — | 223,2 | 4 | 20 |
| 47 | 29. IX. | 1 | — | 0,44 | 2,15 | 2,09 | 0,747 | | 2,43 | 2,36 | | | — | — | 221,2 | 4 | 19¹/₂ |
| 48 | 30. IX. | 1 | — | 0,58 | 2,40 | 2,28 | 0,765 | | 2,67 | 2,54 | | | — | — | 219,4 | 4,1 | 20 |
| 49 | 1. X. | ¹/₂ | — | 0,65 | 2,88 | 2,86 | 0,719 | | 2,61 | 2,64 | — | — | — | — | 216,7 | 5 | 20¹/₂ |
| 50 | 2. X. | 1¹/₂ | — | 0,87 | 1,61 | 1,59 | 0,735 | | 2,51 | 2,48 | — | — | — | — | 218,5 | 3 | 21 |
| — | 3. X. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 51 | 4. X. | 1 | — | 0,52 | 1,97 | 1,98 | 0,730 | 0,748 | 2,71 | 2,70 | — | — | — | — | 207,8 | 3¹/₂ | 21 |
| 52 | 5. X. | 2 | — | 0,51 | 2,58 | 2,51 | 0,747 | | 3,09 | 3,01 | — | — | — | — | 208,6 | 4 | 19 |
| 53 | 6. X. | 1¹/₂ | — | 0,44 | 4,08 | 3,99 | 0,743 | | 3,34 | 3,27 | — | — | — | — | 208,5 | 6 | 21 |
| 54 | 7. X. | — | — | 0,65 | 3,64 | 3,49 | 0,758 | | 4,41 | 4,28 | — | — | — | — | 206,3 | 4 | 20¹/₂ |
| 55 | 8. X. | 1¹/₂ | 0,02 | 0,78 | 4,18 | 4,01 | 0,757 | | 5,09 | 4,88 | — | — | — | — | 205,5 | 4 | 20¹/₂ |
| 56 | 9. X. | — | 0,05 | 0,97 | 4,78 | 4,65 | 0,747 | | 5,81 | 5,65 | — | — | — | — | 205,7 | 4 | 21 |
| 57 | 10. X. | — | — | 0,82 | 3,80 | 3,91 | 0,706 | | 6,59 | 6,78 | — | — | +151 % | +174 % | 190,2 | 3 | 22 |
| 58 | 11. X. | 2 | 0,05 | 0,79 | 3,22 | 3,33 | 0,704 | | 4,23 | 4,36 | — | — | — | — | 190,2 | 3 | 21 |
| 59 | 12. X. | 1 | — | 1,02 | 3,87 | 4,01 | 0,701 | | 4,81 | 4,99 | — | — | — | — | 201,0 | 4 | 21 |
| 60 | 13. X. | 1 | 0,05 | 0,96 | 4,47 | 4,56 | 0,712 | | 5,58 | 5,64 | — | — | — | — | 190,1 | 4¹/₄ | 20¹/₂ |
| 61 | 14. X. | — | — | 0,99 | 4,76 | 4,77 | 0,725 | | 5,82 | 5,88 | — | — | — | — | 192,5 | 4¹/₄ | 20¹/₂ |
| 62 | 15. X. | — | — | 0,92 | 5,00 | 5,18 | 0,708 | | 6,31 | 6,99 | — | — | +158 % | +188 % | 188,5 | 4¹/₄ | 20¹/₂ |
| 63 | 16. X. | — | 0,05 | 0,64 | 2,84 | 2,88 | 0,729 | 0,708 | 4,45 | 4,44 | — | — | — | — | 182,3 | 3¹/₂ | 19¹/₂ |
| 64 | 17. X. | — | — | 0,46 | 1,66 | 1,72 | 0,701 | | 4,66 | 4,88 | — | — | — | — | 178,1 | 2 | 19 |
| 65 | 18. X. | — | — | 0,61 | 1,97 | 2,08 | 0,688 | | 3,59 | 3,79 | — | — | — | — | 182,3 | 3 | 20 |
| — | 19. X. | — | 0,05 | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 66 | 20. X. | — | — | 0,95 | 2,94 | 3,07 | 0,696 | | 3,21 | 3,35 | — | — | — | — | 192,9 | 4³/₄ | 18¹/₂ |
| — | 21. X. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 67 | 22. X. | — | — | 1,24 | 2,52 | 2,57 | 0,712 | | 3,00 | 3,06 | — | — | — | — | 210,3 | 4 | 20 |
| — | 23. X. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | 24. X. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| — | 25. X. | — | — | — | — | — | — | | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 68 | 26. X. | — | — | 0,96 | 2,31 | 2,28 | 0,736 | | 2,66 | 2,65 | — | — | — | — | 215,5 | 4 | 19¹/₂ |

geringe Zahlendifferenz zwischen den Werten von $CO_2$ und $O_2$ erlaubt die gleichzeitige Einzeichnung nicht, weil es sonst undeutlich würde.)

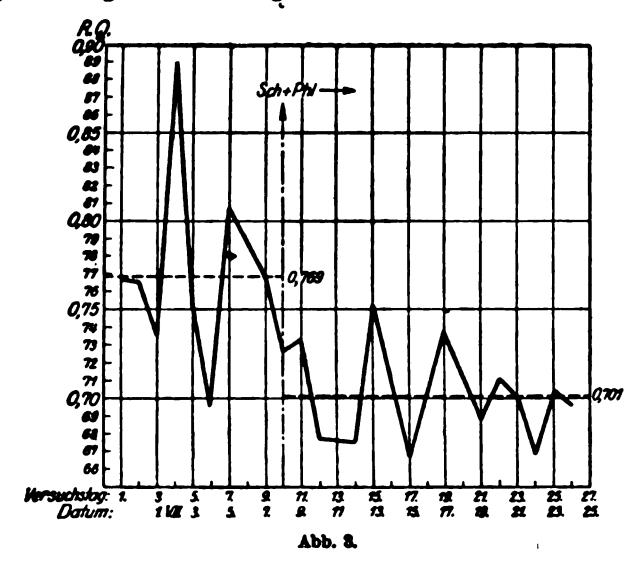



Abb. 3.

3. Der respiratorische Quotient sank von 0,769 auf 0,701, zeigt also deutlich, daß eine merkbare Kohlenhydratverbrennung kaum mehr in Betracht kommen kann (vgl. Abb. 4).

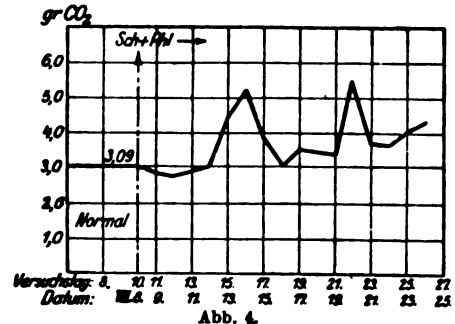



Abb. 4.

Das Befinden dieser Ratte war während des ganzen Versuches ein außerordentlich gutes, wie schon früher erwähnt wurde. Die Gewichtsabnahme war trotz dem sehr starken und sehr lange andauerndem Diabetes eine relativ geringe, namentlich wenn wir diese Zahlen mit denjenigen von Versuchsreihe I vergleichen -- Die Abnahme betrug hier ca. 25%.

Diese Ratte war ein älteres Weibchen, ein vorzügliches Versuchstier. Sie schlief fast immer im Respirationskasten, weshalb wir hier sehr konstante Resultate erhalten konnten. Dazu war sie ziemlich leicht dazu zu bringen, die Schilddrüsentabletten zu fressen, was bei der Ratte II oft auf etwelche Schwierigkeit stieß.

Vorerst wurde auch hier wieder der normale Grundumsatz ermittelt. Hierauf wurde zuerst ein Stoffwechselversuch nur mit Schilddrüsentabletten ausgeführt; Phlorrhizin wurde vorläufig nicht injiziert. Die Ratte erhielt 10 große Tabletten innerhalb von 10 Tagen. Die Wirkung war hier eine ganz gewaltige. Am 12. Tage nach dem Beginn der Schilddrüsenfütterung — also am 2. Tage nach Beendigung derselben — betrug die Steigerung für die $CO_2$-Abgabe 151% und für die $O_2$-Aufnahme 174% gegenüber dem normalen Grundumsatze. Schon 2 Tage vor diesem Maximum wurde der Ratte Phlorrhizin injiziert, zuerst 0,02 und am anderen Tage 0,05, um zu sehen, ob die sofort einsetzende gewaltige Kohlenhydratabgabe ein weiteres Ansteigen verhindere. Aber trotz der kolossalen Glykosurie stieg der Stoffwechsel weiter an und erreichte das oben angegebene Maximum. Am darauffolgenden Tage sehen wir nun allerdings einen jähen Sturz um etwa 56%, am nächstfolgenden Tage wieder ein kleines Ansteigen, ohne daß neue Schilddrüsenwirkung vorhanden sein konnte. Möglicherweise war dies durch das plötzliche Einsetzen von Phlorrhizin mitten in der Stoffwechselsteigerung bedingt. — Die Ratte erhielt nun bei ständigem gewaltigen Phlorrhizindiabetes wieder Schilddrüsentabletten, und zwar 4 Stück innerhalb 3 Tagen. Wiederum sehen wir eine ungewöhnlich starke Steigerung des Stoffwechsels eintreten mit dem Maximum am 2. Tage nach Aufhören mit der Schilddrüsenfütterung. Die Steigerung beträgt hier gegenüber dem normalen Grundumsatze für $CO_2$ 158% und für $O_2$ 183%, also noch etwas mehr als beim ersten Male. Auch tritt am folgenden Tage wieder ein starker Sturz ein um wieder ca. 56%, worauf am nächstfolgenden Tage wieder eine kleine Steigerung eintritt. Bei diesem Sturze handelt es sich also wahrscheinlich um eine Art Regulationsmechanismus im Tierkörper selbst, der sich der gewaltigen Stoffwechselsteigerung entgegensetzt.

Die Ratte überstand auch hier den ganzen Versuch merkwürdig gut, trotz diesem doppelten schweren Eingriff, der außerordentlich hohen Stoffwechselsteigerung durch die Schilddrüsensubstanz und dem gleichzeitigen enormen beständigen Phlorrhizindiabetes. Die Gewichtsabnahme ist ungefähr die gleiche wie bei Ratte II (ca. 25%). Auch diese Ratte hat sich nach den Versuchen völlig erholt, namentlich nahm sie an Gewicht sehr rasch wieder zu.

Dieser dritte Versuch zeigt uns nun besonders drastisch, wie eine kombinierte Schilddrüsen-Phlorrhizineinwirkung den Grundumsatz beeinflußt. Besonders aus den graphischen Darstellungen ersehen wir mit aller Deutlichkeit:

1. Mit Schilddrüsentabletten kann man bei der weißen Ratte ohne große Gefahr eine starke Steigerung des Stoffwechsels hervorrufen (vgl. Abb. 5).

2. Durch die Schilddfüsentabletten tritt eine mindestens ebenso starke Steigerung ein, wenn die Kohlenhydratdepots durch Phlorrhizin fast völlig aus dem Körper vertrieben sind (vgl. Abb. 5).

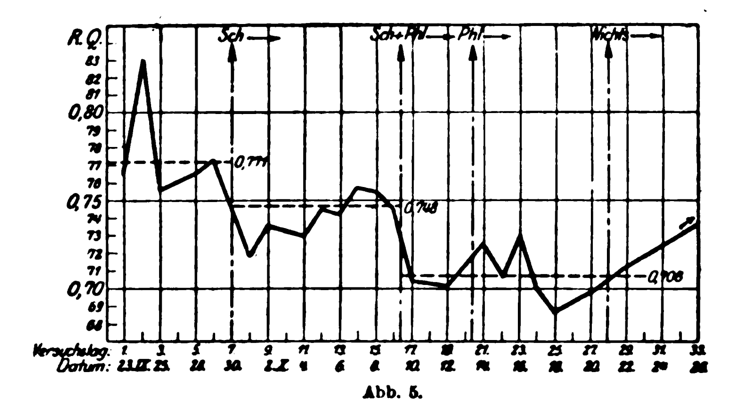



Abb. 5.

3. Der respiratorische Quotient ändert deutlich je nach den Versuchsbedingungen. Er betrug normal 0,771, sank dann bei der Schilddrüsenfütterung auf 0,748, und sank weiter bei der kombinierten Schilddrüsen-Phlorrhizineinwirkung auf 0,708 (vgl. Abb. 6).

Man ersieht nun aus diesen drei Versuchsreihen, daß das Schilddrüsenhormon trotz des Fehlens von Kohlen-

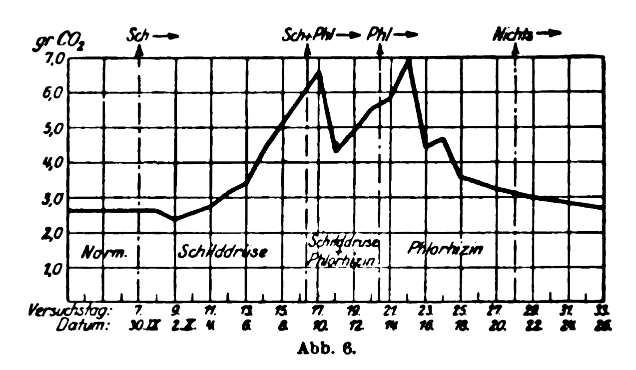



Abb. 6.

hydratdepots im Organismus eine ungefähr gleich große Steigerung des Grundumsatzes hervorruft wie beim Vorhandensein dieser Depots. — Die eingangs erwähnte Theorie von Cramer mag unter normalen Verhältnissen richtig sein. Es ist aber die primäre Steigerung des Kohlenhydratstoffwechsel: nicht unbedingt notwendig; es kann auch bei gestörtem Kohlenhydratstoffwechsel eine primäre Erhöhung des Stoffwechsels von Fetten und Eiweißen eintreten, wie dies bei obigen Versuchen der Fall war.

## Zusammenfassung.

1. Phlorrhizin erzeugt auch bei der weißen Ratte eine ausgedehnte Glykosurie. Die subcutane Injektion nach der Methode von Coolen hat sich dabei als eine vorzügliche erwiesen; die Glykosurie war sehr stark, dabei jedoch äußerst konstant und andauernd.

2. Die weiße Ratte erträgt bei reichlicher Flüssigkeitszufuhr eine kombinierte Einwirkung von Phlorrhizin und Schilddrüsentabletten gut.

3. Phlorrhizin allein ergibt keine Steigerung des Grundumsatzes. Dieser wird im Gegenteil etwas kleiner; dabei sinkt auch der respiratorische Quotient.

4. Das Schilddrüsenhormon steigert den Grundumsatz beim Fehlen von Kohlenhydratdepots im Organismus in der gleichen Weise und im gleichen Maße wie beim Vorhandensein derselben.

# Kalium und Radioaktivität.

Von

**S. G. Zondek.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 27. Mai 1921.)*

Das Kalium stellt ein in der Tier- und Pflanzenwelt weit verbreitetes und durchaus unentbehrliches Element dar. Im tierischen Organismus gibt es kaum eine Zelle, die nicht Kalium als lebensnotwendigen Bestandteil enthält und kaum ein Organ, dessen Funktion nicht davon abhängig wäre, daß in der Umspülungsflüssigkeit in einer bestimmten Menge auch Kalium enthalten ist.

Das Kalium kommt — wie wir im allgemeinen annehmen — im Organismus in zweifacher Form vor.

1. In den Körperflüssigkeiten als freies, diffusibles Kalium-Ion, und

2. Als fixes, an das Eiweiß der Zelle gebundenes Kalium. Der Gehalt der Zellen an fixem Kalium ist im Verhältnis zu ihrem Gehalt an Natrium, Calcium und Magnesium sehr groß. So enthält der Muskel etwa 0,3% Kalium, dagegen nur 0,03% Natrium, 0,02% Calcium und 0,04% Magnesium. In den Körperflüssigkeiten, so z. B. im Blut, ist die Zusammensetzung eine ganz andere. Hier tritt das Kalium — wie schon erwähnt — als freies diffusibles Kalium-Ion auf, und zwar in annähernd gleicher Menge wie die Ca-Ionen (0,01—0,03% KCl u. 0,01—0,02% $CaCl_2$).

Wir wissen heute, daß diesen anorganischen Bestandteilen des Organismus eine große Bedeutung für die Lebensfähigkeit und Funktion der Zellen zukommt. Es ist besonders ein Verdienst der physikalisch-chemischen Forschungsrichtung, unser Verständnis für die Wirkung der anorganischen Substanzen bedeutend gefördert zu haben; doch sind wir heute noch nicht so weit, für Ursache und Art der Wirkung eine ganz sichere Erklärung zu geben. Über das Wesen der Kaliumwirkung hat nun Zwaardemaker[1]) eine

[1]) Zwaardemaker, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 173, 28. 1918.

ganz neue Theorie entworfen, die wegen ihrer Originalität allgemeines Aufsehen erregt hat. Zwaardemaker, der sich auf eine Reihe eigener Untersuchungen und die einer großen Zahl von Schülern stützt, behauptet, daß die Kaliumwirkung lediglich auf die Radioaktivität des Kaliums zurückzuführen ist. Es unterliegt heute keinem Zweifel mehr, daß das Kalium radioaktiv ist. Der erste, der dies gefunden hat, war der Physiker Campbell. Die Radioaktivität des Kaliums ist aber außerordentlich gering und beruht ausschließlich auf $\beta$- und $\gamma$-Strahlen. Nach Campbell ist das Ionisationsvermögen des Kaliums 1/1000 der $\beta$-Aktivität des Urans im Gleichgewicht mit Uran X. Die Radioaktivität des Urans soll nach allgemeiner Annahme wieder nur 1/1000000 der $\beta$-Aktivität des Radiums sein im Gleichgewicht mit seinen Umformungen. Im Vergleich zum Uran und gar zum Radium ist die Radioaktivität des Kaliums also außerordentlich gering. Sie soll nach Zwaardemaker aber genügen, um die mannigfachen Wirkungen des Kaliums zu erklären. Die spezifische Kaliumwirkung beruht demnach nicht auf den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Kaliumions, sondern nach Zwaardemaker lediglich auf den $\beta$-Strahlen, die vom Kalium ausgehen. Verhält sich dies in der Tat so, dann muß das Kalium natürlich durch alle anderen radioaktiven Substanzen ersetzbar sein. Dies hat Zwaardemaker nun besonders durch Versuche am isolierten Froschherzen (Methode nach Kronecker) nachzuweisen versucht, und seine Resultate haben seinen Erwartungen entsprochen.

Bevor auf die Versuche Zwaardemakers näher eingegangen werden soll, muß noch einiges über die Kaliumwirkung am Herzen gesagt werden.

In der Ringerlösung, die bei den Froschherzen als Nähr- bzw. Spülflüssigkeit verwendet wird, ist ungefähr 0,01% KCl neben 0,01—0,02 $CaCl_2$ enthalten. Kalium und Calcium halten sich gegenseitig die Wage. Die Kaliumwirkung am Herzen ist verschiedener Natur. Wie neuerdings Kohn und Pick[1]) gezeigt haben, erregt Kalium die Reizerzeugung des Sinus und Vorhofs, während es auf die tertiären Zentren des automatisch schlagenden Ventrikels lähmend wirkt. Bei einer Kaliumvergiftung wird der Ventrikel sofort gelähmt, während Sinus und Vorhof noch weiterarbeiten können. Das Calcium wirkt im allgemeinen in gerade entgegengesetzter Weise. Es steigert die Kontraktionsfähigkeit des Ventrikels, stört aber nach Kohn und Pick die Reizerzeugung im Sinus und Vorhof sowie die Reizleitung.

[1]) Kohn und Pick, Pflügers Archiv 185, 235. 1920.

Die Empfindlichkeit des Herzens gegenüber Kalium ist eine außerordentlich große. Eine Erhöhung des Kaliumgehaltes auf 0,08% führt (sowohl beim Kaltblüter- wie Warmblüterherz) zu einem Stillstand des Ventrikels in Diastole. Kaliummangel oder vollständige Entfernung des Kaliums aus dem Herzen führt zu folgenden Erscheinungen: Da das Kalium die Reizerzeugung im Sinus und Vorhof anregt, leidet bei Kalientziehung die Automatie des Herzens sehr stark, schließlich kann die Herztätigkeit ganz aufhören und das Herz bleibt in Diastole stehen. Dieser Stillstand ist aber meist nur vorübergehender Natur; denn das Herz vermag dank seinem großen Vorrat an fixem Kali immer wieder etwas Kalium freizumachen, an die Zirkulationsflüssigkeit abzugeben und die Herztätigkeit von neuem anzuregen. Es wechseln — Böhm[1]) hat dies genauer untersucht — Perioden annähernd regelmäßiger Herztätigkeit mit Perioden vollkommenen Stillstandes ab. Aber auch am Ventrikel macht sich der Kaliummangel geltend. Infolge des Kalkübergewichtes nimmt der Tonus bzw. die Kontraktionsbereitschaft des Ventrikels allmählich zu, bis zuletzt schließlich ein systolischer Stillstand des Ventrikels mit starker Contractur eintritt. Das Bild der Kaliumentziehung kann also verschieden sein, je nachdem der Einfluß auf die Reizerzeugung oder der Einfluß auf das Verhalten des Ventrikels im Vordergrund steht. Bei vielen Herzen kommt es sehr schnell zu der Tonuszunahme des Ventrikels, so daß das Herz bald in Systole stehen bleibt. Bei anderen wieder stehen zunächst die Störungen der Reizerzeugung im Vordergrund und am Herzen kommt es — wie oben auseinandergesetzt — periodenweise zu mehr oder weniger lange anhaltendem Stillstand in Diastole. Aber auch bei diesen Herzen tritt schließlich als Endzustand infolge des Kalkübergewichtes doch die Tonuszunahme des Ventrikels und Stillstand in Systole ein.

Bei der großen Empfindlichkeit des Herzens gegenüber dem Kalium sollte man annehmen, daß die Entscheidung, ob ein Ersatz des Kaliums durch alle anderen radioaktiven Substanzen möglich ist, nicht schwer sein dürfte. Erhöht man den Kaligehalt der Ringerlösung, so tritt am Herzen ein diastolischer Stillstand ein. Man kann der Ringerlösung aber radioaktive Substanz in Form von Radiumemanation zusetzen, soviel man will, es kommt zu keinerlei Funktionsänderungen des Herzens. Hiermit scheint also die Zwaardemakersche Theorie erledigt zu sein. Zwaardemaker hat hier aber einen Ausweg gewußt. Er unterscheidet prinzipiell zwischen $\alpha$-und $\beta$-Strahlen und kommt zu folgenden Gruppen:

| $\beta$-Strahler | $\alpha$-Strahler |
|---|---|
| Kalium | Uranium |
| Rubidium | Thorium |
| Cäsium | Radium |
| | Niton (Emanation). |

[1]) Böhm, Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakolog. 75, 230. 1914.

Kalium, Rubidium und Cäsium sind vornehmlich $\beta$-Strahler, Uranium, Thorium, Radium und Emanation vornehmlich $\alpha$-Strahler. Zwaardemaker betrachtet nun die $\alpha$- und $\beta$-Strahler als biologische Antagonisten. Wo sie gleichzeitig vorkommen, sollen sie sich gegenseitig aufheben; so z. B. Kalium und Emanation. Gegen diesen biologischen Antagonismus kann man von vornherein theoretisch nichts einwenden; denn die $\alpha$- und $\beta$-Strahlen sind in der Tat ganz verschiedener Natur. Die $\beta$-Strahlen sind — wie wir jetzt wissen — identisch mit den elektronegativen Elektronen, während die $\alpha$-Strahlen identisch sind mit den elektropositiven Heliumkernen. Für das Herz ist es nun nach Zwaardemaker ganz gleichgültig, ob es $\alpha$- oder $\beta$-Strahlen erhält. Nur ist es zweckmäßiger, wenn nur $\alpha$- oder nur $\beta$-Strahlen auf das Herz einwirken. Treffen nämlich beide Strahlenarten, und zwar in gleicher Menge, gleichzeitig das Herz, so heben sie sich gegenseitig auf, und die Automatie des Herzens schwindet. Weiter sagt Zwaardemaker: „Anders jedoch, wenn man die Konzentrationen abändert und in verschiedenen Verhältnissen gegeneinander abwägt. Dann lassen sich Mischungen herstellen, die je nach der Zusammensetzung Stillstand oder Automatie bedingen.“ Und an einer anderen Stelle: „Ein Zuviel nach der einen Seite ruft Pulsationen hervor, die durch Kalium resp. Rubidium und Cäsium bedingt sind; ein Zuviel nach der anderen Seite Pulsationen, die auf Uran, Thorium, Radium oder Emanation beruhen.“ Eine große Bedeutung kommt demnach der Konzentration der radioaktiven Substanz zu. In einem Liter Ringerlösung sind 100 mg Kaliumchlorid enthalten. Diese Kaliummengen lassen sich nun nach Zwaardemaker ersetzen durch

150 mg Rubidiumchlorid oder Cäsiumchlorid
25 „ Uranylnitrat
50 „ Thoriumnitrat
0,000005 mg Radiumsalz
etwa 100 Macheeinheiten Emanation.

In diesen Mengen sind die radioaktiven Substanzen nach Zwaardemaker äquiradioaktiv.

Zwaardemaker hat seine Versuche nach der schon etwas veralteten Kroneckerschen Methode angestellt; ich selbst habe die Straubsche Methode gewählt. Für einen Teil meiner Versuche diente die von Böhm[1]) modifizierte Kanüle, die auch eine fortge-

[1]) a. a. O.

setzte Spülung des Herzens ermöglichte. Die Resultate waren immer die gleichen.

Ich habe zunächst geprüft, wie radioaktive Substanzen auf das normale Herz wirken und — wie schon erwähnt — gefunden, daß z. B. Radium-Emanation[1]) in beliebigen Mengen dem Herzen zugesetzt, ohne irgendwelchen Einfluß auf die Herzfunktion bleibt. Die Emanationen hatten die Stärke von 100, 200, 300, 400 usw. bis 15000 Macheeinheiten. Alle waren sie vollkommen wirkungslos. Für Urannitrat gilt dasselbe, nur dürfen starke Konzentrationen (über 0,01%) nicht verwendet werden, da sonst die schädliche Wirkung des Uran-Ion selbst auftritt. Von anderen radioaktiven Substanzen habe ich abgesehen. Diese Versuche waren die ersten, die ich angestellt habe, weil sie mir die natürlichsten zu sein schienen; Zwaardemaker hat diesen naheliegenden Versuch nicht gemacht, jedenfalls berichtet er nicht darüber. Nun kann man nach der Zwaardemakerschen Theorie von vornherein nicht verlangen, daß z. B. Radiumemanation an normalen Herzen ebenso wie erhöhte Kaliumzufuhr einen Stillstand des Herzens herbeiführt: denn die $\alpha$-Strahlen der Emanation können doch durch die $\beta$-Strahlen des im normalen Herzen gleichzeitig anwesenden Kaliums aufgehoben werden. Eine gegenseitige Aufhebung kann nach Zwaardemaker jedoch nur durch äquiradioaktive Mengen erfolgen. Für das Herz ist es aber nach meinen Untersuchungen aber ganz gleichgültig, ob man ihm 100 oder 15000 Macheeinheiten Emanation zuführt. Der Gehalt einer Emanation von 15000 Macheeinheiten an $\alpha$-Strahlen ist in quantitativer Hinsicht mit dem Gehalt des Kaliums an $\beta$-Strahlen überhaupt gar nicht zu vergleichen. Wenn man nun bedenkt, daß eine geringfügige Erhöhung des Kaligehaltes — nach Zwaardemaker also eine geringfügige Erhöhung der $\beta$-Strahlen — schon zum Herzstillstand führt, daß andererseits aber dieser gewaltige Überschuß an $\alpha$-Strahlen gar nichts bewirkt, so scheint dies wenig mit der Theorie Zwaardemakers übereinzustimmen.

Die Versuche, die Zwaardemaker angestellt hat, sind wesentlich komplizierter und umständlicher. Ausgehend von dem Antagonismus zwischen $\alpha$- und $\beta$-Strahlern, wollte Zwaardemaker vermeiden, daß beide Strahlen das Herz gleichzeitig treffen.

---

[1]) Die Emanationen hat mir in liebenswürdiger Weise Herr Prof. Geiger von der Physikalischen Reichsanstalt zur Verfügung gestellt.

Deshalb versuchte er, erst das Kalium des Herzens zu entfernen. Er spülte die Herzen so lange mit kalifreier Ringerlösung, bis es zu einem diastolischen Herzstillstand kam und er sich überzeugt hatte, „daß in dem durch Kaliumentziehung stillstehenden Ventrikel keine latente Automatie mehr vorhanden sei.“ Jetzt führte er den Herzen irgendwelche radioaktive Substanzen (Uran, Thorium, Radium usw.) in bestimmten Mengen zu und beobachtete, daß die Automatie des Herzens für längere Zeit wiederkehrte. Daraus folgerte er, daß das Kalium sich durch alle radioaktiven Substanzen ersetzen lasse, die Kaliumwirkung also nur auf seiner Radioaktivität beruhe.

Wie schon auseinandergesetzt, stellt der diastolische Stillstand des Herzens nach Kaliumentziehung keinen Dauerzustand dar. Es wechseln stets Perioden des Stillstandes mit Perioden wiederkehrender Automatie ab. Der diastolische Stillstand ist nie von Dauer. Der Endzustand ist schließlich immer der systolische Stillstand infolge Tonuszunahme des Ventrikels. Die Herzen, bei denen es sehr schnell zu der Tonuszunahme kam, hat Zwaardemaker von vornherein als unbrauchbar ausgeschlossen. Er hat sich nur auf die Herzen beschränkt, bei denen es zu einem diastolischen Stillstand kam. Diese Versuche Zwaardemakers habe ich genau nachgeprüft. Um dem Einwand Zwaardemakers zu entgehen, ich hätte nicht die richtigen Konzentrationen gewählt, habe ich nacheinander folgende Dosierung gewählt: auf 1 l kalifreier Ringerlösung 10, 20, 25, 30, 50, 100 oder 200 mg Urannitrat bezw. 50, 100, 200, 300, 500, 1000, 2000, 10000, 15000 Macheeinheiten Radium-Emanation. Mit fast jeder der gewählten Konzentration wurden nun mehrere Versuche angestellt. Ich kam dabei zu dem Ergebnis, daß der diastolische Herzstillstand der als Folge der Kaliumentziehung auftrat, durch Zufuhr dieser verschieden starken radioaktiven Substanzen in keinem einzigen Falle in irgendeiner Weise zu beeinflussen war. Wohl kehrte in einigen Fällen für einige Zeit die Automatie des Herzens wieder, aber nicht anders, als bei den Kontrollherzen, denen radioaktive Substanz nicht zugeführt wurde. In der Mehrzahl der Fälle ging der diastolische Herzstillstand schließlich in den systolischen über. Aus diesen Versuchen, die in ihrem Resultat denen Zwaardemakers schroff gegenüberstehen, möchte ich noch keine endgültige Schlußfolgerung ziehen.

Es erschien mir notwendig, noch andere Versuche anzustellen. Ich ging dabei von folgender Überlegung aus: Wenn sich Kalium durch radioaktive Substanzen ersetzen läßt, so muß die bei Kaliumentziehung allmählich auftretende Tonuszunahme des Ventrikels und der anschließende systolische Stillstand sich verhindern lassen, wenn gleichzeitig mit Entziehung des Kaliums dem Herzen andere radioaktive Substanzen zugeführt werden. In einer großen Reihe von Versuchen habe ich die Herzen mit kalifreier Ringerlösung gespült, die aber von Anfang an Uran oder Emanation in den verschiedensten vorhin angeführten Konzentrationen enthielt. Die Herzen wurden auf diese Weise immer kaliärmer, dagegen reicher an anderen radioaktiven Substanzen. Der Erfolg war aber auch hier ein vollkommen negativer. Die Tonuszunahme des Ventrikels konnte nicht ausgeschaltet werden, auch ließ sich der Eintritt des systolischen Stillstandes nicht einmal zeitlich hinausschieben. Die Herzen zeigten überhaupt kein anderes Verhalten als diejenigen, die kalifrei gespült wurden, radioaktive Substanzen aber nicht zugeführt erhielten.

Die Grundlage, auf der sich die Theorie Zwaardemakers aufbaut, bildet — wie schon ausgeführt — der biologische Antagonismus zwischen $\alpha$- und $\beta$-Strahlen. Mit dieser Hypothese steht und fällt das ganze System. Ich sagte mir nun folgendes: Normale Herzen sind gegenüber erhöhter Kalizufuhr außerordentlich empfindlich. Erhöht man den Kaligehalt der Ringerlösung von 0,01 etwa auf 0,08%, so bleibt das Herz momentan in Diastole stehen. Da Kalium ein $\beta$-Strahler ist, so müßte die schädliche Kaliumwirkung sich ohne weiteres abschwächen lassen, wenn man gleichzeitig einen Antagonisten, z. B. Emanation als $\alpha$-Strahler dem Herzen zuführt. Ich habe wieder ganz verschieden starke Emanationen angewandt, und konnte auch hier nur wie bisher feststellen, daß es für die Herzen vollkommen gleichgülitg war, ob ihnen radioaktive Substanz zugeführt wurde oder nicht. Die schädliche Kaliwirkung hat sich in keiner Weise beeinflussen lassen.

Das Ergebnis meiner Versuche läßt sich dahin zusammenfassen:

1. Ich habe die wichtigsten Zwaardemakerschen Herzversuche nachgeprüft, aber in keinem einzigen Punkte bestätigen können.

2. Von der Zwaardemakerschen Theorie ausgehend, habe ich noch eine Reihe anderer Versuche angestellt. Aber auch hier

hat sich nichts ergeben, was dafür sprechen könnte, daß die Kaliumwirkuug auf der Radioaktivität des Kaliums beruhe.

Es bleibt nun zu erwägen wie Zwaardemaker und die große Zahl seiner Schüler bei allen Versuchen immer zu denselben positiven Resultaten gelangt sind. Im Zusammenhang damit möchte ich auf folgendes aufmerksam machen: Zwaardemaker hat, um seine Theorie zn beweisen, immer die kompliziertesten und umständlichsten Versuche angestellt und dabei das Naheliegende übersehen. So erwähnt er nicht einmal, daß die denkbar stärksten Radiumemanationen ohne jede Wirkung auf das normale Herz sind. Ob er diese Versuche überhaupt gar nicht angestellt hat, weiß ich nicht. Auch folgende Versuche gehören hierher. Die nach kalifreier Spülung geschwundene Automatie des Herzens will Zwaardemaker nicht nur durch Zufuhr radioaktiver Substanz mit der Nährlösung, sondern auch durch geeignete Bestrahlung von außen wiederhergestellt haben. Es standen ihm Präparate von 3 mg Radium, 5 und 6 mg Mesotorium zur Verfügung. Wie er selbst angibt, strahlten die Präparate „abgesehen von den $\gamma$-Strahlen nur $\beta$-Strahlen aus“. Hier hätte sich ihm die beste Gelegenheit geboten, zu prüfen, wie radioaktive Substanzen auf das normale, kalihaltige Herz wirken. Hier kann nicht mehr der Einwand von dem biologischen Antagonismus der $\alpha$- und $\beta$-Strahlen erhoben werden; denn Kalium ist $\beta$-Strahler und die von Zwaardemaker zur Bestrahlung verwendeten Präparate waren auch $\beta$-Strahler. Diesen Versuch hat Zwaardemaker aber nicht gemacht, sondern er sagt: „Es ist ausgeschlossen, daß man mit unseren schwachen Präparaten auch nur irgendeine Wirkung der Bestrahlung erreichen würde, wenn man mit Blut oder normaler Ringerscher Flüssigkeit durchströmte. Die Durchströmungsflüssigkeit muß unbedingt kaliumfrei sein.“

Wenn man sich auf den Boden der Zwaardemakerschen Theorie stellt, ist dies aber unverständlich. Man bedenke folgendes: Eine Erhöhung des Kaliumgehaltes der Ringerlösung von 0,01% auf etwa 0,08% führt zu einem sofortigen Herzstillstand. Da die Menge der Nährlösung nicht mehr als $^1/_2$ ccm zu betragen braucht, genügen zu dieser starken Herzwirkung also schon Mengen von 0,0003 bis 0,0004 g KCl. Wenn nun diese Kaliumwirkung eine Folge der von ihm ausgehenden $\beta$-Strahlen ist, sollten dann Radium- und Mesothoriumpräparate von 3—6 mg nicht

genügen, um auch eine Wirkung hervorzurufen? Selbst angenommen, daß die Präparate Zwaardemakers noch wesentlich schwächer gewesen sein sollten und auch das Durchdringungsvermögen ein verschiedenes war, die Menge der von den Präparaten ausgehenden $\beta$-Strahlen steht in gar keinem Verhältnis zu der ganz geringfügigen $\beta$-Strahlung des Kaliums. Vom Standpunkt der Zwaardemakerschen Lehre aus hätten diese Präparate nicht nur einen Stillstand des Herzens herbeiführen müssen, nein — wenn man die Intensität der Wirkung bildlich besonders zum Ausdruck bringen will — sie hätten die Herzen vollkommen zertrümmern müssen. Diese einfachen und alleinbeweisenden Versuche hat Zwaardemaker aber nicht angestellt, sondern immer nur die kompliziertestе Versuchsanordnung gewählt. Und nur so ist es erklärlich, daß er wie seine Schüler zu den ganz eigenartigen Versuchsergebnissen gelangt sind.

Bei einer Reihe von Untersuchungen sind aber auch die Voraussetzungen, von denen Zwaardemaker ausgeht, nicht ganz richtig. So versuchten er und Günzburg zu zeigen, daß die Ersetzbarkeit des Kaliums durch radioaktive Substanzen nicht nur für das Herz, sondern auch für andere Gewebe und Organe gilt, so z. B. das Gefäßendothel. So durchspülten sie Frösche nach der Laewen-Trendelenburgschen Methode mit kalifreier Ringerlösung und stellten fest, daß nach etwa 3 Stunden ein Ödem in allen Organen auftrat. Dieses Ödem konnte aber gänzlich verhindert werden, wenn mit normaler, also auch kalihaltiger Ringerlösung gespült wurde oder mit einer Ringerlösung, die statt Kalium Uranylnitrat oder Thoriumnitrat enthielt. Wer jemals am Laewen-Trendelenburgschen Gefäßapparat gearbeitet hat, wird über diese Resultate Zwaardemakers überrascht sein; denn — wie ich glaube — gibt es keinen Autor, der nicht festgestellt hat, daß auch bei Spülung mit der gewöhnlichen, also kalihaltigen Ringerlösung, nach einigen Stunden starke Ödeme auftreten. Diese Versuche sind daher nicht als beweiskräftig zu betrachten.

Nun noch zu der theoretischen Beweisführung Zwaardemakers, die mir etwas widerspruchsvoll zu sein scheint. Nur einiges will ich hervorheben: Nachdem Zwaardemaker durch seine Versuche festgestellt haben will, daß das Kalium durch alle anderen radioaktiven Substanzen ersetzbar ist, die Kaliumwirkung also auf der Radioaktivität des Kaliums beruhe, kommt er plötz-

lich zu folgender These: „Noch ein Schritt weiter, und man wird zur Hypothese geführt, daß die Strahlung des Kaliums der fixen Verbindungen normaliter der Faktor ist, welcher fortwährend das Atom Kalium aus dem festen Gefüge der anisotropen Muskelsubstanz befreit. Dann wird auf einmal alles klar und übersichtlich. Normaliter findet durch die Eigenstrahlung des Kaliums in der Muskelzelle eine ständige Mobilisierung von Kaliumatomen statt, die als Ionen durch die normaliter permeabele Grenzschicht die Zelle verlassen und nach der Zirkulationsflüssigkeit auswandern. Hier bilden sie das diffusible Kalium, welches eine notwendige Bedingung ist für eine regelmäßige Automatie. Während einer von außen herbeigeführten Bestrahlung wird das Kalium in besonders großen Mengen aus den fixen Verbindungen freigestellt. Wenn jedoch die Balanzierung gestört ist, wie im von kaliumfreier Ringerscher Flüssigkeit durchströmten Herzen, so kann zwar etwas vom diffusiblen Kalium entweichen, jedoch nicht genug, so daß das überschüssige Kalium, dem natürlichen beigemischt, im Innern der Zelle eine solche Anhäufung der frei beweglichen Kaliumionen zustande bringt, daß hierdurch ein Übermaß entsteht, welches schließlich den Herzstillstand herbeiführt."

Mit dieser Hypothese — glaube ich — wirft Zwaardemaker seine eigene Theorie selbst über Bord. Die Wirkung der Strahlung soll also nur darin bestehen, das fixe Kalium in die diffusible Form überzuführen. Damit ist doch aber garnicht die Wirkungsweise des diffusiblen Kaliums erklärt. Und sie ist es doch gerade, die uns hier am meisten beschäftigt. Man kann doch nur dann behaupten, daß die Kaliumwirkung eine Folge der Radioaktivität ist, wenn man den Nachweis führt, daß auch die Wirkung des diffusiblen Kaliums nicht durch die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Kaliumions bedingt ist, sondern daß sie lediglich durch die vom Kalium vollkommen losgelösten freien Elektronen hervorgerufen ist; denn letztere sind ja bekanntlich identisch mit den $\beta$-Strahlen. Am Ende seiner Arbeit nimmt Zwaardemaker seine Theorie aber wieder in der ursprünglichen Form auf.

Nun noch eine andere und, wie mir scheint, sehr schwache Seite der Theorie. Schon Sidney Ringer hat zeigen können, daß Kalium durch Rubidium und Cäsium ersetzbar ist. Das hat auch Zwaardemaker gefunden, und an der Richtigkeit dieser Befunde

läßt sich nicht zweifeln. Kalium und Rubidium sind schwach radioaktiv, Cäsium aber gar nicht. Über diese Schwierigkeit setzt sich *Zwaardemaker* dadurch hinweg, daß er sagt: Die Radioaktivität des Cäsiums kann zwar physikalisch nicht festgestellt werden, aber biologisch ist das Cäsium radioaktiv. Nun fragt man sich natürlich, weshalb ist das Cäsium biologisch radioaktiv? Nach *Zwaardemaker* eben deshalb, *weil Cäsium das Kalium ersetzen kann*. Wenn Kalium durch Rubidium und Cäsium ersetzbar ist, Kalium und Rubidium nun radioaktiv sind, Cäsium aber nicht, so glaube ich, sollte folgende Schlußfolgerung berechtigter sein: *Die Radioaktivität kann also nicht der Faktor sein, der ihre Wirkungsart erklärt.*

Wenn ich dieser Kritik der Zwaardemakerschen Untersuchung nun noch das Resultat meiner eigenen Versuche anreihe, so bleibt für mich nichts anderes übrig, als die Zwaardemakersche Theorie vollkommen abzulehnen[1]).

Zwar läßt sich noch nicht sagen, ob der geringfügigen Radioaktivität des Kaliums nicht doch noch irgendeine Bedeutung im Organismus zukommt, die wir heute noch nicht kennen. Das — glaube ich — ist aber sicher; die Kaliumwirkung, die wir kennen und von der auch *Zwaardemaker* ausgeht, *hängt nicht mit der Radioaktivität zusammen*. Meiner Meinung nach ist jeder Versuch, die Kaliumwirkung unabhängig von der Wirkung der anderen Kationen (Na und Ca) zu erklären, verfehlt. Im tierischen Organismus, so besonders am Herzen, bilden Natrium, Kalium und Calcium eine physiologische Einheit. Zwischen ihnen besteht ein weitgehendes Abhängigkeitsverhältnis. Die Wirkung des einen hängt untrennbar mit der des anderen zusammen. Ihrer Wirkungsart können wir nur dann näherkommen, wenn wir für sie eine gemeinsame Grundlage finden. Darauf wird in der folgenden Abhandlung „Das Ionengleichgewicht der Zellen" näher eingegangen werden. Die Radioaktivität, die nur dem Kalium zukommt, kann jedenfalls nicht die gemeinsame Plattform sein.

---

[1]) Bei Niederschrift dieser Arbeit ist eine Mitteilung R. *Loebs*[2]) erschienen, in der er auf Grund von Versuchen an Arabacieneiern ebenfalls zur Ablehnung der *Zwaardemaker*schen Auffassung kommt.

[2]) R. *Loeb*, Journ. de physiol. et de pathol. gén. **3**, 229. 1920.

# Das Ionengleichgewicht der Zellen.

## Gleichzeitig ein Beitrag zur Physiologie des Natriums.

Von

**S. G. Zondek.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

Nach gemeinschaftlichen Untersuchungen mit
Trou-Hia Hsü (Schantung) und W. Devrient (Kasan).

*(Eingegangen am 26. Mai 1921.)*

Mit 8 Abbildungen im Text.

Das Kochsalz wurde lange Zeit als ein für den Organismus indifferentes Salz angesehen. Verständlich ist dies, wenn man bedenkt, daß trotz großer Schwankungen in der enteralen Kochsalzzufuhr wesentliche Veränderungen im Organismus nicht auftreten brauchen. Das liegt aber nur daran, daß unter physiologischen Bedingungen der Organismus dank seiner resorbierenden und sezernierenden Organe in der Lage ist, den Kochsalzspiegel der Körperflüssigkeiten auf einer konstanten Höhe zu erhalten. Wir wissen aber jetzt, daß besonders bei subcutaner oder intravenöser Zufuhr größerer Kochsalzmengen auch abnorme Zustände auftreten können, wie z. B. das Kochsalzfieber und die Kochsalzglykosurie. Von der Harmlosigkeit des Kochsalzes kann also nicht immer die Rede sein. Das Kochsalz kommt in den Körperflüssigkeiten in einer die anderen Salze so weit übersteigenden Menge vor, daß der osmotische Druck der Flüssigkeiten fast nur von ihm bestimmt wird. Und es ist sicher, daß bei allen physiologischen Vorgängen, bei denen osmotische Druckwirkungen eine Rolle spielen, das Kochsalz vornehmlich der Träger der Funktion

ist. Nur müssen wir uns hüten, die Bedeutung des osmotischen Druckes für physiologische Vorgänge zu überschätzen.

Die Formgestaltung der roten Blutkörperchen hängt in starkem Maße von dem osmotischen Druck der Flüssigkeit ab, in der sie suspendiert sind.

Hypertonische Lösungen führen zur Schrumpfung der Blutkörperchen, hypotonische Lösungen zur Hämolyse. Neben dem osmotischen Druck sind für die Hämolyse aber noch andere Faktoren maßgebend. So konnte z. B. Höber zeigen, daß bei anderen Salzen Hämolyse auch trotz Isotonie eintreten kann. Es zeigte sich hier eine regelmäßige Abhängigkeit von der Anionen- und Kationennatur des betr. Salzes. Andererseits können Blutkörperchen auch in einer isotonischen Traubenzuckerlösung aufgeschwemmt werden, ohne daß sie ihr Aussehen wesentlich zu verändern brauchen. Es muß daher ohne weiteres zugegeben werden, daß für die Formgestaltung der Blutkörperchen die osmotische Druckwirkung des Kochsalzes eine sehr große Rolle spielt. Anders ist es beispielsweise beim quergestreiften willkürlichen Muskel. Overton[1]) hat zeigen können, daß der quergestreifte Muskel seine Erregbarkeit verliert, wenn er aus Kochsalzlösung in eine isotonische Zuckerlösung gebracht wird. Die Erregbarkeit kehrt aber wieder, wenn auch nur ein Bruchteil des Traubenzuckers durch einen entsprechenden Teil NaCl oder eines anderen Natriumsalzes ersetzt wird. Damit wurde der Beweis geliefert, daß die Erregbarkeit des Muskels an die Gegenwart von Natriumionen gebunden ist. Andererseits war aber auch festgestellt, daß, wenn auch nicht das ganze Kochsalz, so doch wenigstens ein großer Teil des Kochsalzes durch isosmotische Traubenzuckermengen ersetzbar ist. Overton hat weiterhin gezeigt, daß selbst dieses für die Erregbarkeit des Muskels notwendige Natriumminimum noch ersetzbar ist, und zwar durch Lithium, sonst aber durch nichts. Für die Formgestaltung der roten Blutkörperchen spielt die osmotische Druckwirkung des NaCl also eine überragende Rolle, für den Erregungsvorgang beim quergestreiften willkürlichen Muskel ist ein Teil der Kochsalzwirkung schon als eine spezifische Wirkung des nur durch Lithium ersetzbaren Natriums aufzufassen. Noch anders ist es beim Herzen. Hier tritt — wie die folgenden Untersuchungen zeigen sollen — die osmotische Druckwirkung des Kochsalzes noch weiter zurück und im Vordergrund steht nur die spezifische Wirkung des Natriumions. Unsere Versuche sind am isolierten Froschherzen angestellt, das an der Straubschen Kanüle arbeitete. Verwandt wurden nur die Herzen männlicher Landfrösche.

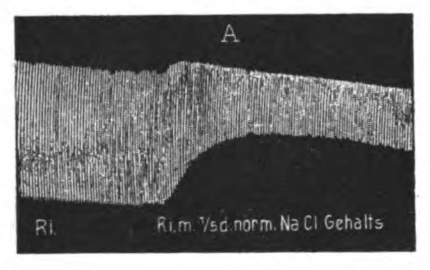
Daß die Natriumionen für die normale Herzfunktion unbedingt notwendig sind, hat schon Jacques Loeb[2]) nachgewiesen. Er nimmt sogar an, daß die Natriumionen am Herzen die allein wirksamen Ionen seien, während die anderen Ionen, so z. B. die Calciumionen nur für die Ent-

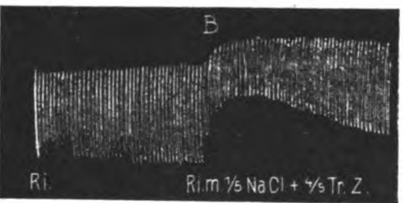
[1]) Overton, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 105, 176. 1904.

[2]) Jacques Loeb, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 80, 229. 1900 u. 88, 68. 1902.

giftung der Natriumionen vorhanden wären. Diese Auffassung halte ich jedoch für zu weitgehend. Auch Sakai[1]) hat durch Spülungsversuche am Herzen zeigen können, daß die Hemmungswirkung von Extrasystolen in weitgehendem Maße von dem Natriumgehalt der Nährlösung beeinflußt wird, und daß diese Natriumwirkung eine ganz spezifische ist. Das Kochsalz ließ sich durch isosmotische Traubenzuckermengen nicht ersetzen.

Bei den Versuchen ging ich zunächst von der Frage aus: Wie verhalten sich am Herzen osmotische Druckwirkung und Kochsalzwirkung zueinander? Zunächst sollte festgestellt werden, ob wenigstens ein Teil des NaCl durch isosmotische Traubenzuckermengen ersetzt werden kann. Das ist aber vollkommen unmöglich. Auf jede Verringerung des NaCl-Gehaltes der Ringerschen Nährlösung reagiert das Herz — wie auch Sakai gefunden hat — mit einer Tonuszunahme und Verkürzung des Muskels (siehe Abb. 1 A). Die Systolen werden stärker, die Diastolen schwächer, ähnlich wie bei der Calciumwirkung. Die Intensität dieser Wirkung ist abhängig von dem Grad der Kochsalzverringerung. Die stärkste Wirkung tritt natürlich bei vollkommenem Fehlen des Kochsalzes auf. Auch bei einer Verringerung des Kochsalzgehaltes von 0,6 auf 0,4% sind die Erscheinungen am Herzen noch deutlich sichtbar. Das gleiche tritt ein, auch wenn das fehlende Kochsalz durch isosmotische Traubenzuckermengen ersetzt wird (Abb. 1 B). Die Änderungen in den Herzfunktionen haben also nichts mit dem osmo-



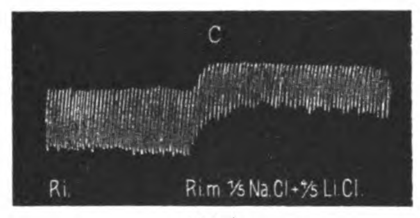




Abb. 1.

[1]) Sakai, Zeitschr. f. Biol. 62, 295. 1913.

tischen Druck zu tun. Es blieb jetzt zu prüfen, ob das Kochsalz ähnlich wie beim quergestreiften willkürlichen Muskel durch andere Elektrolyte, und zwar durch Lithiumsalze ersetzbar ist. Wie Kurve 1c zeigt, ist aber auch die Zufuhr isosmotischer Lithiummengen ohne jeden Einfluß. Das Lithium stellt für das Froschherz, wie festgestellt werden konnte, einen indifferenten Körper dar. Geprüft wurde fernerhin das Magnesium. Wie zu erwarten war, vermögen auch seine Salze nicht das Kochsalz zu ersetzen. Das Kochsalz kann dagegen durch andere Natriumsalze ersetzt werden,

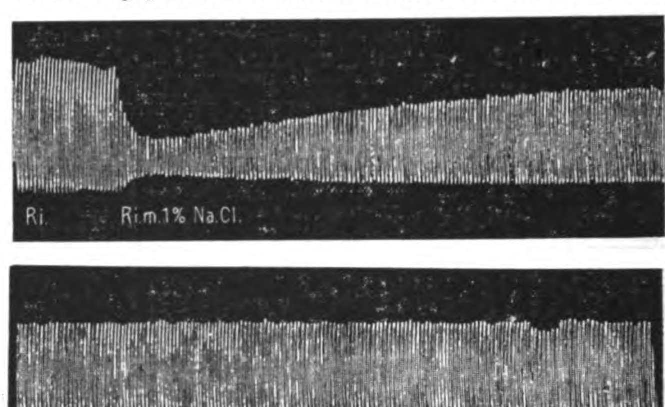
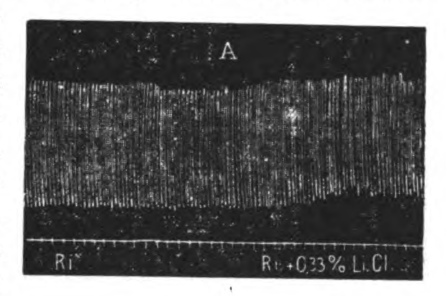


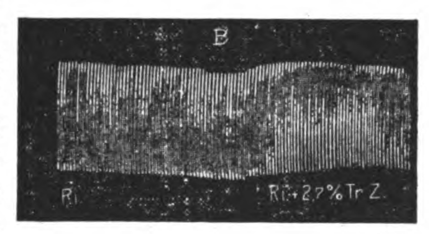

Abb. 2.

z. B. NaBr. Die Veränderung der Herzfunktion bei verringertem NaCl-Gehalt ist also lediglich auf die Veränderung des Gehaltes an Natriumionen zurückzuführen. Ob bei verringertem NaCl-Gehalt der osmotische Druck durch Zusatz von Traubenzucker oder auch LiCl ausgeglichen wird, ist gleichgültig.

Die folgenden Untersuchungen galten der Frage, wie ein Herz arbeitet, das mit einer Ringerlösung ernährt wird, deren NaCl-Gehalt erhöht ist. Während bei verringertem NaCl-Gehalt eine starke Tonuszunahme des Ventrikels auftritt, kommt es bei erhöhtem NaCl-Gehalt gerade umgekehrt zu einer Erschlaffung des Ventrikels (Abb. 2). Aber auch diese Wirkung ist nicht die Folge des gesteigerten osmotischen Drucks, sondern wiederum eine spezifische Wirkung der Natriumionen. Bei einer Steigerung des NaCl-

Gehaltes von 0,6 auf 0,9% ist die Wirkung schon deutlich erkennbar; bei einer NaCl-Konzentration von 1,1% bleibt der Ventrikel schon in Diastole stehen. Erhöht man den osmotischen Druck der Ringerlösung durch Zusatz von Traubenzucker oder Harnstoff oder LiCl — da es sich hier um ganz verschiedene Körper handelt, kommt eine pharmakologische Wirkung dieser Körper nicht in Frage — so tritt keine Erschlaffung des Ventrikels auf. Im Gegenteil, der Tonus des Muskels nimmt vorübergehend eher noch etwas zu (Abb. 3). Erhöhung des osmotischen Druckes und Erhöhung des NaCl-Gehaltes führen also keineswegs zu den gleichen Erscheinungen. Im Gegenteil, die Wirkung kann entgegengesetzter Natur sein. Die Beeinflussung der Herzfunktion durch Erhöhung des osmotischen Drucks ist indes nur sehr gering. Die Tonuszunahme tritt erst auf, wenn der osmotische Druck sehr stark erhöht ist, so z. B. bei Zusatz von etwa 2,5% Traubenzucker. Der Zusatz dieser Traubenzuckermengen bedeutet aber eine Erhöhung des osmotischen Druckes um annähernd 100%.



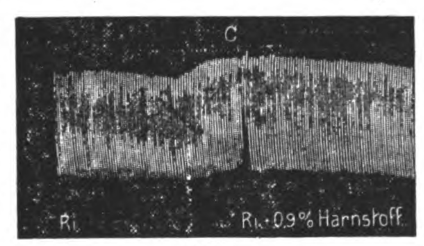




Abb. 3.

Eine Erhöhung des osmotischen Drucks bis zu 50% ist überhaupt ohne jede Wirkung auf die Herzfunktion. Harnstoff und LiCl verhalten sich nicht wesentlich anders als Traubenzucker. Da eine Erhöhung des NaCl-Gehaltes der Ringerlösung nicht nur nicht zur Tonuszunahme, sondern gerade umgekehrt zu einer starken Erschlaffung des Ventrikels führt, so ist es klar, daß hier Kochsalzwirkung und osmotische Druckwirkung nichts gemein haben. Darauf möchte ich besonders hinweisen, da in thera-

peutischer Beziehung die Wirkung von Traubenzuckerinfusionen häufig von vornherein denen von Kochsalzinfusionen gleichgesetzt zu werden pflegen. Ich denke hierbei an die „Osmotherapie", der in neuerer Zeit von vielen Autoren, so z. B. Bürger u. Hagemann[1]), das Wort geredet wird.

Wie NaCl wirken auch andere Natriumsalze. So nimmt schon bei Zusatz von 0,2% NaBr die Kontraktionsfähigkeit des Ventrikels deutlich ab.

Welcher Art ist nun die spezifische Wirkung der Natriumionen? Diese Frage läßt sich für sich allein kaum beantworten; denn es ist nicht möglich, die Natriumwirkung unabhängig von der Wirkung der anderen für die Herzfunktion notwendigen Kationen zu erklären. Zwischen ihnen besteht ein weitgehendes Abhängigkeitsverhältnis. Bekannt ist am Herzen der Antagonismus zwischen den K- und Ca-Ionen; sie dürfen nur in einem bestimmten Mengenverhältnis vorhanden sein. Ein Übergewicht an Kalium führt zum diastolischen Herzstillstand, ein Übergewicht an Calcium zum systolischen Stillstand. Ein ähnlicher Antagonismus besteht nun auch zwischen Natrium und Calcium. Dies geht am besten aus folgendem Versuch hervor: Verringert man den normalen Calciumgehalt der Ringerlösung von 0,01% auf etwa 0,002% $CaCl_2$, so werden die Herzkontraktionen infolge des Calciummangels bedeutend schwächer. Verringert man gleichzeitig auch den Natriumgehalt der Ringerlösung um etwa 0,6% auf 0,3%, so bleibt die Herzfunktion annähernd regelrecht (Abb. 4). Das Calcium ist also nicht nur der Antagonist des Kaliums, sondern auch der des Natriums. Ähnlich liegen die Verhältnisse ja auch beim quer-

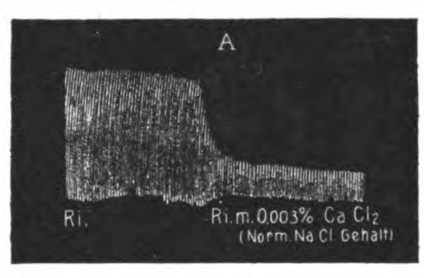






Abb. 4.

[1]) Bürger und Hagemann, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 8, S. 207.

gestreiften Muskel. Ferner wissen wir, daß z. B. auch das Kochsalzfieber und die Kochsalzglykosurie durch Calcium gehemmt werden können.

Natrium und Kalium stehen sich am Herzen in ihrer Wirkung nahe. Wenn sie in der Nährlösung im Übergewicht sind, so führen sie beide im Gegensatz zum Calcium zum diastolischen Herzstillstand. Ihre Wirkungen summieren sich. So arbeitet das Herz in physiologischer Kochsalzlösung schlecht, die Kontraktionen werden sehr schwach; fügt man aber noch Kalium hinzu in einer für die Ringerlösung üblichen Menge, so arbeitet das Herz noch schlechter. Das Herz bleibt in Diastole stehen. Erst durch Zusatz von Calcium wird die Funktion wiederhergestellt. Das Calcium steht also dem Natrium + Kalium gegenüber $\left(\frac{Na + K}{Ca}\right)$. In calciumfreier Ringerlösung bleibt das Herz sofort in Diastole stehen. Das ist verständlich, wenn man bedenkt, daß das Herz dann ganz unter den Einfluß des gleichsinnig wirkenden Na + K gerät. Ernährt man dagegen das Herz mit kalifreier Ringerlösung, so kommt es nicht gleich infolge Calciumübergewichts zum systolischen Stillstand, da dem Calcium noch sein Antagonist Natrium gegenübersteht. Ähnlich wie beim Herzen ist es auch bei den motorischen Nervenendigungen. Die indirekte Erregbarkeit des quergestreiften Muskels geht in Kochsalzlösung ziemlich schnell verloren, noch schneller aber — wie Overton gezeigt hat — in einer Kochsalzlösung, die noch Kalium enthält. Dagegen stellt Calciumzusatz die Erregbarkeit sofort wieder her.

Natrium, Kalium und Calcium bilden eine physiologische Einheit. Es ist nicht zweckmäßig — wie Jacques Loeb[1]) es tut — dem Natrium allein eine ausschlaggebende Bedeutung für die Herzfunktion zuzusprechen und die Bedeutung des Calcium nur in der Entgiftung des Natriums zu sehen. Mit demselben Recht könnte man auch die Ca-Wirkung als das Wesentliche ansehen und die Bedeutung des Natriums nur in der Entgiftung des Ca erblicken. Die Wirkung des einen ist m. E. genau so ausschlaggebend wie die Wirkung des anderen. Die normale Funktion des Herzens — die anderen Organe verhalten sich sicherlich ähnlich — ist abhängig von einem bestimmten Gleichgewicht, das zwischen diesen

[1]) A. a. O.

drei Ionen besteht. Wird das Gleichgewicht nun nach irgendeiner Richtung hin, also nach der Natrium-, Kalium- oder Calciumseite verschoben, so ist eine Funktionsstörung des Organs die notwendige Folge. Die Organe besitzen aber — wie ich feststellen konnte — die Fähigkeit, sich neuen Gleichgewichtsverhältnissen wieder anzupassen. Natürlich ist das physiologische Gleichgewicht immer als das optimale anzusehen. Wie aus Abb. 1 ersichtlich, antwortet das Herz auf jede stärkere Verringerung des Natriumgehaltes mit einer starken Tonuszunahme des Muskels, auf eine Vermehrung des Natriumgehaltes (s. Abb. 2) mit einer starken Erschlaffung des Muskels. Diese Funktionsänderungen sind aber nur vorübergehender Natur. Das Herz stellt sich bald wieder auf ein neues Gleichgewichtsverhältnis ein und die Herzfunktion wird wieder (Abb. 2) annähernd regelrecht.

Wie stellt sich das Herz nun auf dieses neue Gleichgewicht ein? Man ist geneigt, zunächst anzunehmen, daß das überschüssige Natrium in das Herz hineindiffundiert oder, daß durch Wasserabgabe des Herzens die Nährlösung soweit verdünnt wird, daß der NaCl-Gehalt normal und die Herzfunktion wieder regelrecht wird. Beides ist aber sicherlich nicht der Fall, und zwar aus folgenden Gründen: Zunächst wurde untersucht, ob die elektrische Leitfähigkeit der natriumreichen Ringerlösung nach Zusatz zum Herzen sich in irgendeiner Weise ändert.

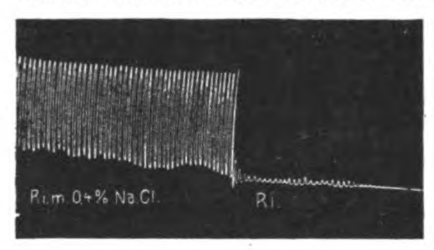
Die Bestimmung des elektrischen Widerstandes wurde mit der Wheatstoneschen Brücke vorgenommen. Als Widerstandsgefäß diente das von Hamburger angegebene. Bei einer konstanten Temperatur wurde nun der elektrische Widerstand einer natriumreichen Ringerlösung bestimmt. Dann wurde die Lösung dem Herzen zugesetzt; am Herzen trat die oben beschriebene Wirkung auf. Die Lösung wurde erst entfernt, als die Herzfunktion wieder regelrecht wurde. In dieser Weise wurden mehrere Herzen behandelt, die Nährflüssigkeit gesammelt und von neuem die Widerstandsmessung vorgenommen. Sie ergab, wie folgende Tabelle zeigen soll, keine wesentliche Abweichung gegenüber der ersten Messung. Die Schwankung war nicht größer als bei der Ernährung des Herzens mit Ringerlösung.

| Datum | Zeit | Temp. | Material | Widerstand (in Ohm) |
|---|---|---|---|---|
| 3. III. | $2^h$ 15′ | 18,3 | Ringer | 49,93 |
| | $4^h$ 30′ | 18,4 | Ringer | 49,70 |
| 4. III. | $11^h$ 30′ | 18,2 | Ringer (nach Zusatz zum Herzen) | 47,71 |
| | $3^h$ 30′ | 17,8 | desgleichen | 47,20 |

| Datum | Zeit | Temp. | Material | Widerstand (in Ohm) |
|---|---|---|---|---|
| 5. III. | 11h | 18,2 | Ringer (m. 1% NaCl) | 31,41 |
| | 1h | 18,2 | desgl. (nach Zusatz zum Herzen) | 31,75 |
| 31. III. | 11h | 18,2 | Ringer (m. 1% NaCl) | 30,89 |
| | 12h | 18,1 | desgl. (nach Zusatz zum Herzen) | 32,45 |

Eine wesentliche Änderung des Salzgehaltes der Nährlösung durch Diffusion von Salzen in das Herz oder Wasser aus dem Herzen hat also nicht stattgefunden. Wir müssen dagegen annehmen, daß die Herzmuskelzellen selbst sich diesem neuen, also natriumreichen Gleichgewicht anpassen. Dafür spricht auch folgendes. Wenn sich das Herz auf diesen höheren Natriumgehalt eingestellt hat, so führt eine erneute Zufuhr dieser natriumreichen Lösung keine wesentliche Funktionsstörung mehr herbei (s. Abb. 2). Das gleiche gilt für die Herzen, die mit natriumarmer Ringerlösung ernährt werden. Auch hier stellt sich das Herz auf ein neues Gleichgewichtsverhältnis ein, und die Herzfunktion wird wieder regelmäßig. Der neue Gleichgewichtszustand ist natürlich für das Herz nicht so gut wie der physiologische. Letzterer allein ist der optimale. Daß es sich wirklich um neue Gleichgewichte handelt, an die sich das Herz gewöhnt hat, geht auch aus folgendem Versuch hervor, der zeigen soll, daß die Reaktionsfähigkeit dieser Herzen eine ganz verschiedene ist. Führt man ihnen nämlich wieder die gewöhnliche, normale Ringerlösung zu, so zeigt sich etwas Eigenartiges (s. Abb. 5). Das Herz, das sich auf den niedrigeren Natriumgehalt eingestellt hatte, beantwortet die Zufuhr von Ringerlösung mit einer starken Abnahme der Kontraktionsstärke bzw. mit einem diastolischen Stillstand des Ventrikels. Dagegen reagiert das Herz, das sich auf den höheren Natriumgehalt eingestellt hatte, auf die Zufuhr von normaler Ringerlösung mit einer Zunahme der Kontraktionsstärke. Ein und dieselbe Ringerlösung kann also bei diesen Herzen zu einer ganz entgegengesetzten Wirkung führen. Zu erklären ist dies in folgender Weise: Für das Herz, das sich auf eine Lösung mit niedrigerem Natriumgehalt eingestellt hat, bedeutet die normale Ringerlösung mit einem NaCl-

Gehalt von 0,6% jetzt eine Lösung mit erhöhtem Natriumgehalt und die Folge davon ist, daß die Ventrikelmuskulatur diastolisch erschlafft; denn Natriumübergewicht führt — wie die ersten Versuche gezeigt haben — zur diastolischen Erschlaffung des Muskels (s. Abb. 2). Für das Herz, das sich auf den höheren Natriumgehalt eingestellt hatte, bedeutet die normale Ringerlösung jetzt eine Nährlösung mit verringertem Natriumgehalt, und die Folge davon ist, daß der Muskeltonus zunimmt und die Kontraktionen stärker werden (wie bei Abb. 1).



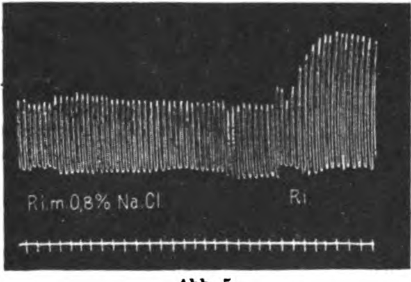




Abb. 5.

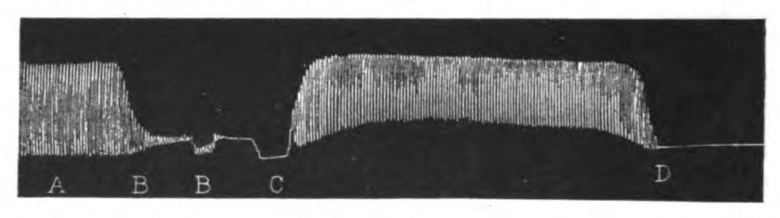
Die Zufuhr der normalen Ringerlösung ist bei diesen Herzen also nichts anderes als eine neue Gleichgewichtsstörung, die keineswegs harmloser Natur zu sein braucht. Die Herzen können sich zwar allmählich wieder auf die normale Ringerlösung, also auf das ursprüngliche, und zwar physiologische Gleichgewicht einstellen; jedoch kommt es häufig vor, daß die Herzen dabei auch sterben. Besonders trifft dies für die Herzen zu, die auf einen niedrigeren Natriumgehalt eingestellt sind und dann mit Ringerlösung behandelt werden. Nachdem man einige Male Ringerlösung zugeführt hat, kann der Tod des Herzens eintreten; es kommt zu einer irreversiblen Contractur des Ventrikels. Wir haben es hier mit eigentlich ganz paradoxen Erscheinungen zu tun; denn man bedenke folgendes: Die Herzen, die sich auf den niedrigeren Natriumgehalt eingestellt haben, können trotz ihres neuen aber durchaus unphysiologischen Gleichgewichtszustandes am Leben bleiben; dagegen kann der Versuch, sie auf das normale, physiologische Gleichgewicht wieder zurückzuführen, ihren Tod bedeuten. Ferner geht aus diesen Versuchen hervor, daß vom physiologischen Gesichtspunkte aus ganz harmlose Substanzen, hier also die Ringerlösung, für Zellen oder Organe, deren Lebensbedingungen nicht

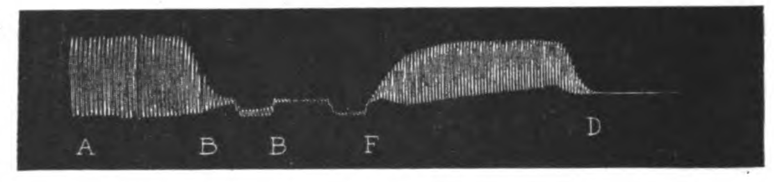
mehr physiologische, also pathologische sind, ihre Harmlosigkeit verlieren können. Im Zusammenhang damit möchte ich auf folgendes aufmerksam machen: Es gibt eine Reihe von Schwangerschaftstoxicosen (Hyperemesis, Dermatosen usw.), die am besten durch Infusionen von Ringerlösung geheilt werden. Dies ist eine von R. Freund gefundene und vielen anderen Autoren bestätigte Tatsache. Zunächst erscheint der therapeutische Wert sicherlich etwas zweifelhaft, da man sich kaum vorstellen kann, wie die harmlose Ringerlösung irgendeine Wirkung entfalten soll. Vielleicht beruht diese eigenartige Wirkung aber auch darauf, daß hier für bestimmte Zellen, die infolge der Schwangerschaftstoxicose unter pathologischen Bedingungen leben, die Ringerlösung nach der oben angegebenen Weise gar keine harmlose Lösung mehr darzustellen braucht und so in der Lage ist, eine therapeutische Wirkung im Organismus zu entfalten.

Wenn die Lebensbedingungen der Zelle von der Norm abweichen, so sind eben ganz paradoxe Wirkungen möglich. Das geht auch aus folgenden Versuchen hervor: Vergiftet man ein Herz mit Oxalsäure oder ernährt man das Herz calciumfrei, so bleibt das Herz infolge des Calciummangels in Diastole stehen. Die Herztätigkeit setzt aber sofort wieder ein, sobald man normale, also auch calciumhaltige Ringerlösung zuführt. Nun hat in einer erst kürzlich erschienenen Arbeit O. Loewi[1]) zeigen können, daß die Herztätigkeit auch einsetzt, wenn man statt der Ringerlösung eine isotonische Nichtelektrolytlösung zuführt, so z. B. 1,2% Harnstoff, 3% Mannit oder 6% kryst. Rohrzucker. Diesen bemerkenswerten Befund sucht Loewi folgendermaßen zu erklären. Er nimmt an, daß die Nichtelektrolyte die Calciumabscheidung aus dem Herzen anregen bzw. das Herz für Calcium etwa nach Art der Digitaliskörper besonders sensibilisieren und so die Funktion des infolge calciumfreier Ernährung gelähmten Herzens wiederherstellen. Daß diese Erholung des Herzens wirklich auf vom Herzen abgeschiedenes Calcium zurückzuführen sei, schloß Loewi daraus, daß die Herzfunktion erlosch, sobald er dem Herzen wieder einige Tropfen Natriumoxalat zuführte, also das Calcium wieder ausfällte. Diese Auffassung O. Loewis ist aber sicherlich nicht richtig. Wie ich festgestellt habe, kann man auch auf den Zusatz der Nichtelektrolyte verzichten und nur reines destilliertes Wasser

[1]) O. Loewi, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 187, 105. 1921.

zusetzen; die Herzfunktion wird dadurch ebenfalls wiederhergestellt (s. Abb. 6 untere Reihe). Daß gewöhnliches dest. Wasser die Herztätigkeit bessern soll, erscheint zweifellos sehr paradox, aber doch stimmt es. Allerdings vermag die Herzfunktion bei der Ernährung mit Rohrzuckerlösung länger anzuhalten, als bei der Ernährung mit Aqu. dest. Das liegt aber daran, daß beim Aqu. dest. der osmotische Druck der Nährlösung auf Null sinkt. Dem osmoti-



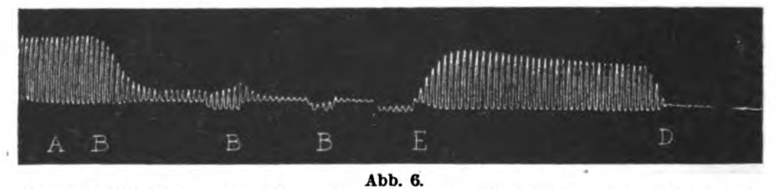




Abb. 6.
*A* Ringer, *B* Entfernung der Ringerschen Lösung, *C* 0,4% LiCl-Lösung, *D* einige Tropfen 1% Na-Oxalat-Lösung, *F* 6% Rohrzuckerlösung, *E* destilliertes Wasser.

schen Druck kommt zwar — wie ich anfangs auseinandergesetzt habe — keine sehr große Bedeutung für die Herzfunktion zu. Aber solche extreme Druckschwankungen sind natürlich nicht ganz harmlos. Setzt man nun dem Aqu. dest., um Isotonie herzustellen, ein für die Herzfunktion sonst ganz indifferentes Salz, wie das LiCl (etwa 0,4%) hinzu, so erreicht man ganz dasselbe wie mit der Rohrzuckerlösung (s. Kurve 6 obere u. mittlere Reihe). Der Herzstillstand wird ebenfalls sofort aufgehoben, und die Herzfunktion bleibt lange Zeit gut, besonders dann, wenn man der LiCl-Lösung noch ganz geringe Mengen von $CaCl_2$ zusetzt, entsprechend dem Kalkgehalt der 6proz. Rohrzuckerlösung — nach Loewi etwa 0,0001%. Zwischen der Wirkung der LiCl-Lösung und der

Zuckerlösung besteht hier ebensowenig ein Unterschied wie bei den anfangs wiedergegebenen Versuchen. Vom Aqu. dest. unterscheiden sie sich aber auch nur durch ihre Isotonie. Ob nun der Herzstillstand nach calciumfreier Ernährung durch eine Rohrzucker- oder LiCl-Lösung oder durch Aqu. dest. aufgehoben wird, nach Zusatz einiger Tropfen 1 proz. Na-Oxalatlösung tritt der Stillstand sofort wieder auf (s. Kurve 6). Zunächst geht aus diesen Versuchen hervor, daß es sich hier keineswegs gerade um eine spezifische Wirkung der Nichtelektrolyte im Sinne O. Loewis handelt. Aus der Tatsache, daß Na-Oxalat wieder von neuem einen Stillstand herbeiführt, schloß Loewi, daß zuvor Calzium in vermehrtem Maße vom Herzen abgeschieden sein muß. Diese Annahme besteht aber — wie sich aus dem folgenden noch ergeben wird — nicht zu Recht. Meiner Meinung nach sind diese Erscheinungen folgendermaßen zu erklären. Wenn man ein Herz calciumfrei ernährt, so tritt ein diastolischer Stillstand auf infolge des Natrium- und Kaliumübergewichtes. Führt man dem Herzen in diesem Stadium 0,6 proz. Kochsalzlösung zu, läßt man also noch das Kalium weg, so kommt es zu einer ganz leichten Erholung des Herzens, da jetzt nur noch allein ein Natriumübergewicht besteht. Führt man dem Herzen aber Aqu. dest. oder, um die Isotonie zu bewahren, reine Rohrzucker- oder LiCl-Lösung hinzu, so setzt die Herztätigkeit ganz ein, da jetzt auch das Natriumübergewicht fortfällt. Die Herzen verhalten sich in dieser Beziehung ähnlich, wie die befruchteten Funduluseier. Letztere entwickeln sich, wie Jacques Loeb festgestellt hat, in einer Nährlösung, die z. B. Natrium- und Kalksalze enthält, gut; in einer Lösung, die aber nur Natrium oder nur Calciumsalze enthält, gehen die Funduluseier zugrunde, dagegen bleiben sie in dest. Wasser entwicklungsfähig. Auch Loewi hält es von vornherein nicht für unmöglich, daß die Aufhebung des Herzstillstandes durch Rohrzuckerlösung darauf beruhen könnte, daß nun auch das NaCl als Antagonist des Calciums fortfällt. Er kommt aber schließlich doch zu der Annahme, daß die Wiederkehr der Herztätigkeit dadurch bedingt ist, daß die Nichtelektrolyte die Calciumabscheidung aus dem Herzen begünstigen. Er stützt sich darauf, daß Natriumoxalat wieder von neuem einen Stillstand herbeiführt. Nun kann man aber — wie ich festgestellt habe und aus Abb. 7 ersichtlich ist — statt Natriumoxalatlösung auch einige Tropfen einer 1 proz. NaCl-

Lösung zuführen und erhält ebenfalls einen neuen Stillstand. Diese Wirkung wird hier vor allem also durch die Natriumionen und nicht durch die Oxalatanionen hervorgerufen, und das ist auch ohne weiteres verständlich; denn das Herz, das mit Rohrzucker bezw. LiCl-Lösung oder mit Aqu. dest. ernährt wird, hat sich auf ein neues und zwar — wie aus den folgenden Leitfähigkeitsmessungen sich ergeben wird — ein an Natrium, Kalium und Calcium äußerst armes Gleichgewicht eingestellt. Wenn man nun Natriumoxalat oder NaCl zuführt, so erhält man wieder ein einseitiges Natriumübergewicht, und die Folge ist natürlich ein neuer Herzstillstand.

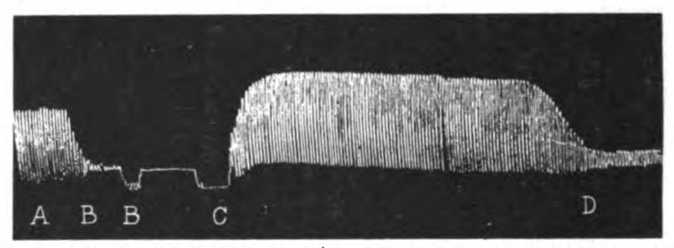



Abb. 7. *A* Ringer, *B* Entfernung der Ringerschen Lösung, *C* 6% Rohrzuckerlösung, *D* einige Tropfen 1% NaCl-Lösung.

Daß die Oxalatanionen an sich noch außerdem schädliche Wirkungen ausüben, ist nicht ganz ausgeschlossen. Es ist zweifellos auffallend, daß das Herz unter den beschriebenen Bedingungen arbeiten kann, obgleich als Nährlösung nur eine isotonische Rohrzuckerlösung oder gar Aqu. dest. verwendet wird. Nun könnte man sich ja vorstellen, daß das Herz aus seinem eigenen Salzvorrat an die Rohrzuckerlösung oder an das dest. Wasser bestimmte Salzmengen abgibt. Ob dies der Fall ist, wurde wieder in der Weise geprüft, daß die elektrische Leitfähigkeit der Nährlösung vor und nach Zufuhr zum Herzen bestimmt wurde. Die Methodik war die gleiche wie die vorhin schon angegebene. Die Rohrzuckerlösung wurde etwa 10—15 Minuten mit dem fast normal funktionierenden Herzen in Berührung gelassen und dann abgesaugt. Das destillierte Wasser konnte nur etwa 5 Minuten mit dem Herzen in Berührung bleiben, da die Herzfunktion dann wesentlich schlechter wurde. Die Rohrzuckerlösung kann nicht als ganz elektrolytfrei betrachtet werden, da der Rohrzucker ganz geringe anorganische Beimengungen enthält. Diese genügen aber schon, um die großen Unterschiede der Leitfähigkeitswerte für das dest. Wasser und die Rohrzuckerlösung zu erklären.

| Datum | Zeit | Temperatur | Material | Widerstand (in Ohm) |
|---|---|---|---|---|
| 8. V. 1921 | $10^h$ | 18,8 | 6 proz. Rohrzucker gelöst in Aqu. dest. | 9900 |
| 9. V. 1921 | $10^h$ 15′ | 18,9 | desgl. nach Berührung mit dem Herzen. | 443,5 |

Dieser Unterschied der Leitfähigkeit vor und nach Zufuhr zum Herzen scheint zunächst kein geringer zu sein. Nun muß man aber folgendes bedenken. Die Rohrzuckerlösung enthält nur ganz geringe anorganische Beimengungen. Ein kleiner Salzzusatz muß daher — was die Leitfähigkeit betrifft — zu sehr großen Wertunterschieden führen. Um zu prüfen, welcher Salzgehalt der Leitfähigkeit von 443,5 entspricht, wurde die Leitfähigkeit von Rohrzuckerlösung mit bestimmtem Kochsalzgehalt gemessen.. Die Resultate waren folgende:

| Temperatur | Material | Widerstand |
|---|---|---|
| 18,8° | 6 proz. Rohrzucker | 9900 |
| „ | desgl. + 0,002% NaCl | 4900 |
| „ | desgl. + 0,005% NaCl | 3746 |
| „ | desgl. + 0,01% NaCl | 3233 |
| „ | desgl. + 0,02% NaCl | 1166 |
| „ | desgl. + 0,04% NaCl | 662,1 |
| „ | desgl. + 0,066% NaCl | 461,8 |
| „ | desgl. + 0,1% NaCl | 316,7 |

Der Widerstandswert von 443,5 Ohm entspricht also einem NaCl-Wert, der zwischen 0,066% und 0,1%, also bei etwa 0,08% liegen muß. Es ist also sicher, daß das Herz gut arbeiten kann, obgleich der gesamte Salzgehalt, auch Kalium- und Calciumsalz mit eingeschlossen, nur einem NaCl-Wert von 0,08% entspricht. Der normale Kochsalzgehalt der Ringerlösung beträgt aber bekanntlich 0,6%. Woher erhält die Rohrzuckerlösung aber selbst diesen Salzgehalt von etwa 0,08%? Es liegt natürlich nahe, anzunehmen, daß aus dem Herzen Salze in die salzfreie Rohrzuckerlösung diffundieren. In diesem Zusammenhang muß nun auf eine Fehlerquelle aufmerksam gemacht werden, die nicht ganz unwesentlich ist. Wenn man aus dem Herzen die calciumfreie Ringerlösung absaugt und der Kanüle die Rohrzuckerlösung zusetzt, so vermischt sich letztere natürlich mit den Resten der calciumfreien Ringerlösung, die im Ventrikel zurückgeblieben sind und sich nicht vollständig

entfernen ließen. Auch an der Wandung der Kanüle bleibt ein Rest der vorhergehenden Nährlösung zurück. Wie groß der dadurch entstandene Fehler ist, geht aus folgendem Versuch hervor. Nach Eintritt des Herzstillstandes infolge Ernährung mit calciumfreien Ringer wurde Rohrzuckerlösung zugesetzt, aber sofort wieder entfernt und dann frische Rohrzuckerlösung dem Herzen zugeführt. Zur Leitfähigkeitsbestimmung wurde in diesen Fällen immer nur die zweite Rohrzuckerlösung verwandt. Auf diese Weise wurde ein großer Teil der im Ventrikel zurückgebliebenen Ringerlösung herausgespült. Ob alles herausgespült wurde, ist noch sehr fraglich; denn es ist natürlich möglich, daß ein Teil der Ringerlösung noch in den Nischen des Herzens, z. B. an den Klappen sich befindet, der sich erst allmählich mit der Rohrzuckerlösung mischt. Welche Bedeutung aber diese einmalige Spülung hat, soll folgende Tabelle zeigen:

| Temperatur | Material | Widerstand |
|---|---|---|
| 18,8° | 6 proz. Rohrzuckerlösung | 9900 |
| 18,8° | desgl. nach Zufuhr zum Herzen | 1049 |

Dieser Widerstandswert entspricht — wie aus der vorhergehenden Tabelle ersichtlich — nur einem NaCl-Gehalt von etwa 0,02%, während der erstgefundene Salzwert bei 0,08% lag. Der größte Teil des Salzgehaltes der Rohrzuckerlösung ist also sicherlich nur auf die Vermischung mit der Ringerlösung zurückzuführen. Das Maximum, was vom Herzen an Na-, Ka- und Ca-Salzen selbst abgegeben werden kann, übersteigt zusammen nicht mehr als 0,02%. Wenn also überhaupt Salze aus dem Herzen in die salzfreie Zuckerlösung diffundieren, so kann es sich nur um geringe Mengen handeln. Nun wurde — wie schon oben erwähnt — das Herz statt mit Rohrzuckerlösung auch mit Aqu. dest. ernährt, und ebenfalls Widerstandsmessungen vorgenommen. Die Resultate weichen aber nicht wesentlich von denen bei der Rohrzuckerernährung ab.

| Temperatur | Material | Widerstand |
|---|---|---|
| 18,8° | Aqu. dest. | 65 700 |
| „ | desgl. nach Zufuhr zum Herzen | 363,0 |

Dieser Wert von 363,0 Ohm entspricht, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich, ebenfalls einem NaCl-Wert, der zwischen 0,066 und 0,1% liegt.

| Temperatur | Material | Widerstand |
|---|---|---|
| 18,8° | Aqu. dest. | 65 700 |
| „ | desgl. + 0,02% NaCl | 1 077 |
| „ | desgl. + 0,066% NaCl | 449,5 |
| „ | desgl. + 0,1% NaCl | 320,2 |

Der Widerstandswert von 363,0 liegt diesmal etwas näher bei 0,1%, also etwa bei 0,09% (beim Rohrzucker etwa 0,08%). Dies sind aber keine nennenswerten Unterschiede; sie liegen im Bereich der Fehlerquellen. Auch hier kann also die Diffusion der Salze aus dem Herzen nur eine sehr geringe sein. Dies ist um so auffallender, als bei der Ernährung mit dest. Wasser maximale osmotische Druckdifferenzen vorhanden sind. Andererseits geht aus diesen Versuchen hervor, daß die Herzzellen selbst sich allmählich auf einen neuen von dem physiologischen Wert stark abweichenden Salzgehalt einstellen können. So arbeitet das Herz, dessen Rohrzucker-Nährlösung nicht mehr als 0,08% Salze enthält — also etwa $^1/_8$ des normalen Gehaltes — unter den angegebenen Bedingungen sehr gut. Bei 0,02% Gesamtsalzgehalt ist dagegen die Funktion schon wesentlich schlechter.

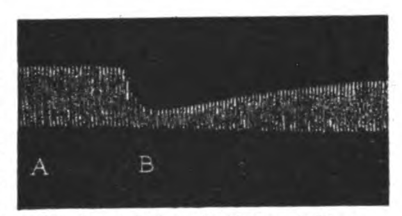


Abb. 8. *A* Rohrzuckerlösung, *B* Ringer.

Das Herz, das sich auf ein neues Gleichgewicht eingestellt hat, reagiert aber anders als ein Herz mit dem physiologischen Ionengleichgewicht. So führt am Herzen, das mit der Rohrzuckerlösung arbeitet, Zufuhr von Ringerlösung zu einer vorübergehenden starken Abnahme der Kontraktionsfähigkeit des Muskels (s. Abb. 8). Die Zufuhr von Ringerlösung bedeutet hier für das Herz, das sich auf den niedrigen Ionengehalt eingestellt hat, eben wieder eine neue Gleichgewichtsstörung, dem sich das Herz erst allmählich anpassen kann. Noch stärker ist die Wirkung bei Zufuhr einiger Tropfen einer 1 proz. NaCl-Lösung, da es hier zu einem einseitigen starken Natriumübergewicht kommt (s. Abb. 7). Bei der Kochsalzwirkung handelt es sich auch hier natürlich um eine ganz spezifische Natriumwirkung, und zwar um die Beziehung der Na-Ionen zu den K- und Ca-Ionen.

Die nahen Beziehungen in der biologischen Wirkung des Natriums, Kaliums, Calciums stützen sich z. T. sicherlich auf die Be-

ziehungen, die zwischen dem Bau ihrer Atome, bezw. ihrer Ionen bestehen. Wie wir gesehen haben, wirken am Herzen, vor allem am Herzmuskel, das Natrium und Kalium in gleicher Richtung; ihre Wirkungen summieren sich. Ähnlich ist es auch bei den motorischen Nervenendigungen. Nun wissen wir, daß Kalium durch Rubidium und Cäsium, und daß Natrium — zwar nicht immer, beispielsweise aber am quergestreiften Muskel — durch Lithium ersetzt werden kann. Ihrer biologischen Wirkung nach stehen sich also das Lithium, Natrium, sowie das Kalium, Cäsium und Rubidium nahe. Sie stehen aber auch im periodischen System in derselben Gruppe und zeichnen sich dadurch aus, daß ihre Ionen elektrisch einfach positiv geladen sind. Auf der anderen Seite haben wir nun das Calcium, das biologisch in gerade entgegengesetzter Weise wirkt, wie Na, K, Cs usw. Wie Calcium wirkt am Herzen aber auch das Strontium und Baryum. Sie stehen auch in derselben Reihe des periodischen Systems und zeichnen sich dadurch aus, daß ihre Ionen zweifach positiv geladen sind. Es stehen sich also auch am Herzen die ein- und zweiwertigen anorganischen Kationen biologisch in ähnlicher Weise gegenüber, wie es aus den klassischen Untersuchungen Jacques Loebs an den befruchteten Funduluseiern bekannt ist. Für das Magnesium gilt diese Wertigkeitsregel nicht. Obgleich es auch zweiwertig ist, wirkt es am Herzmuskel nicht ähnlich wie Calcium, sondern in entgegengesetzter Richtung. Es besteht hier ein Antagonismus, wie er auch aus anderen Versuchen bekannt ist (z. B. die Magnesiumnarkose). Die Ausnahmestellung des Mg. tritt auch sonst in vielen kolloid-chemischen und physikalisch-chemischen Erscheinungen deutlich hervor. Auf der Wertigkeit des Elementes bezw. der elektrischen Ladung des ionisierten Atoms allein beruht die Wirkung der anorganischen Kationen am Herzen aber sicherlich nicht; denn dann müßte am Herzen das Natrium genau wie Kalium wirken. Das ist aber nicht der Fall. Sie stehen sich in ihrer Wirkung zwar sehr nahe, es bestehen aber doch sehr große Unterschiede in der Empfindlichkeit des Herzens ihnen gegenüber. Aber auch hier scheint uns das periodische System einige Anhaltspunkte zu geben. Die Intensität der Wirkung nimmt — wie ich feststellen konnte — hier beim Herzen mit dem Atomgewicht bzw. der Ordnungszahl der Atome zu.

| Ordnungszahl | | Ordnungszahl | |
|---|---|---|---|
| Li . . . . | 3 | Be . . . | 4 |
| Na . . . | 11 | Mg . . . | 12 |
| K . . . . | 19 | Ca . . . | 20 |
| Rb . . . | 37 | Sr. . . . | 38 |
| Cs . . . | 55 | Ba . . . . | 56 |

Dem Lithium gegenüber ist das Herz noch fast unempfindlich. Die Natriumwirkung dagegen ist schon viel stärker; doch ist die Toleranz des Herzens immer noch eine ziemlich große. Beim Kalium erreicht die Empfindlichkeit des Herzens ihr Maximum. Gegenüber den folgenden Elementen Rb und Cs steigt die Empfindlichkeit aber nicht mehr, sondern hält sich ungefähr auf gleicher Höhe wie gegenüber dem Kalium. Die Wirksamkeit von $NH_4$-Salzen liegt am Herzen etwa zwischen der der Natrium- und Kaliumsalze.

Für die Wirkungsart scheint also die elektrische Ladung des Ions von Bedeutung zu sein. Die Intensität dagegen hängt in großem Maße von dem Atombau, d. h. — gemäß unserer heutigen Vorstellung von dem Bau der Atome — von der Ordnungszahl des Atoms ab. Deutlich ist dies beim Ca und K. Ihre Wirkungsart ist eine antagonistische, entsprechend der verschiedenartigen elektrischen Ladung ihrer Ionen. Die Intensität ihrer Wirkung, d. h. die Empfindlichkeit des Herzens und auch die der meisten anderen Organe ihnen gegenüber, kann aber ungefähr als die gleiche betrachtet werden. Dementsprechend ist nun auch ihre Stellung im periodischen System. Sie stehen dicht nebeneinander. Ihre Ordnungszahl differiert nur um 1. Bei anderen Zellen oder Organen kann diese Gesetzmäßigkeit — falls das Ergebnis weiterer Untersuchungen überhaupt dazu berechtigen sollte, eine Gesetzmäßigkeit anzunehmen — in anderer Richtung verlaufen; denn die Reaktion der anorganischen Ionen mit Zelleiweiß hängt natürlich auch von der Eiweißnatur ab. So ist aus der Kolloidchemie bekannt, daß zum Beispiel die Fällungskraft der Kationen für Laugeneiweiß der Fällungskraft für Säureeiweiß entgegengesetzt ist. Für Laugeneiweiß gilt die Reihe: $Li < Na < K < Rb < Cs$, während sie für Säureeiweiß in umgekehrter Richtung verläuft: $Cs < Rb < K < Na < Li$. Da jeder Eiweißkörper anders geartet sein kann, wird es ungemein schwierig sein, ein einheitliches System zu schaffen. Schon ältere Untersuchungen von Blake, Richet und Botkin waren darauf gerichtet, die Wirkung der

Elemente in Beziehungen zum periodischen System zu bringen; und nicht ganz ohne Erfolg. Ich glaube nun, daß gerade das neue Atomsystem uns auf diesem Wege wird weiterbringen können. Jedenfalls scheint es mir lohnenswert, hier weiteres Material zusammenzutragen, um wenigstens den Versuch zu machen, neben den chemischen und physikalischen Eigenschaften auch die biologische Wirkung der Elemente aus ihrem Atombau heraus zu erklären. Nach dieser Richtung hin bieten auch neuere Untersuchungen Jacques Loebs[1]) Interesse. So konnte er für die Kationenwirkung bei Arabazieneiern folgendes feststellen. Wie im periodischen System Na zwischen K und Li steht, so weichen auch Li und K in ihrer physiologischen Wirkung in entgegengesetzter Richtung vom Natrium ab. Arabazieneier vertragen Li in 5facher Menge, wenn Natrium durch Kalium, Rubidium oder Cäsium ersetzt wird. Wir sehen also, daß auch hier bei den Arabazieneiern, ähnlich wie bei unseren Herzversuchen, die Wirkung der einzelnen Kationen in Beziehungen steht zu ihrer Stellung im periodischen System bezw. zu Atomnummer. Der Einfluß der Atomnummer auf die Intensität der Wirkung spiegelt sich ja auch deutlich in der vorhin schon angeführten Kationenreihe wieder, die für die Fällungskraft von Säure- und Laugeneiweiß gilt. Es wird sich nun darum handeln, an möglichst vielen biologischen Systemen zu prüfen, ob diese Gesetzmäßigkeit auch bei allen lebenden Organzellen in Erscheinung tritt. Der Wirkungseffekt braucht natürlich — wie schon vorhin hervorgehoben — nicht immer in der gleichen Richtung zu liegen. Das liegt eben an der verschiedenartigen Natur des Eiweißes, mit dem die einzelnen Elemente in Reaktion treten. Vielleicht läßt sich aber andererseits aus der verschiedenen biologischen Reaktionsfähigkeit der einzelnen Zellen gegenüber den einzelnen Elementen bezw. ihren Ionen auch auf Unterschiede im Eiweißbau der einzelnen Zelle schließen. Dies ist aber natürlich nur Hypothese.

## Zusammenfassung.

1. Die osmotischen Druckverhältnisse haben für die Funktion des Herzens nur eine untergeordnete Bedeutung.

2. Die osmotische Druckwirkung des NaCl tritt am Herzen fast ganz zugunsten der spezifischen Wirkung der Natriumionen zurück.

---

[1]) Jacques Loeb, Journ. de pathol. et de physiol. gén. 3, 237. 1920.

3. Osmotische Druckwirkung und Kochsalzwirkung brauchen nicht parallel zueinander zu verlaufen.

4. Verringerter Kochsalzgehalt führt am Herzen zu einer Tonuszunahme des Herzmuskels. Vermehrter Kochsalzgehalt führt zu einer Erschlaffung des Herzmuskels, während erhöhter osmotischer Druck eine geringe Tonuszunahme bedingt.

5. Die Natriumwirkung steht am Herzen in nahen Beziehungen zur Kalium- und Calciumwirkung. Calcium ist nicht nur ein Antagonist des Kaliums, sondern auch des Natriums. $\frac{Na + K}{Ca}$.

6. Der Herzstillstand bei calciumfreier Ernährung wird verhindert, wenn gleichzeitig der Natriumgehalt herabgesetzt ist. Bei Herzen, die infolge calciumfreier Ernährung ihre Funktion eingestellt haben, wird die Funktion durch Zufuhr natriumfreier Lösungen wiederhergestellt (z. B. durch Aqu. dest., Rohrzucker- oder Lithiumchloridlösung).

7. Eine besondere pharmakologische Wirkung kommt den Nichtelektrolyten, wie Rohrzucker, Traubenzucker, Harnstoff usw., am Herzen nicht zu.

8. Die normale Herzfunktion ist abhängig von einem bestimmten Gleichgewichtszustand zwischen den Na-, K- und Ca-Ionen. Störung dieses Gleichgewichts führt zur Störung der Funktion.

9. Das Herz besitzt aber die Fähigkeit, sich auch auf neue Gleichgewichte einzustellen, so z. B. auf ein natriumreicheres und ein natriumärmeres als das physiologische, auch auf ganz ionenarme Gleichgewichte.

10. Die auf ein verschiedenes Ionengleichgewicht eingestellten Herzen sind aber verschieden reaktionsfähig, z. B. gegenüber der gewöhnlichen Ringerlösung. Der Versuch, die abnorm eingestellten Herzen wieder auf das ursprüngliche physiologische Gleichgewicht zurückzuführen, kann unter Umständen den Tod der Herzmuskelzellen herbeiführen.

11. Na, K und Ca bilden eine Einheit. Ihre physiologische Wirkung kann nur auf gemeinsamer Grundlage beruhen.

12. Es wird der Versuch gemacht, ihre Wirkung am Herzen in Beziehungen zu ihrer Stellung im periodischen System zu bringen.

Während die antagonistische Wirkung scheinbar ein Ausdruck der verschiedenartigen elektrischen Ladung ihrer Ionen ist,

scheint die Intensität der Wirkung mit der Atomnummer bezw. Ordnungszahl in Zusammenhang zu stehen.

Am deutlichsten ist dies bei der Wirkung des Kaliums und Calciums. Sie unterscheiden sich lediglich durch ihren Antagonismus. Dem Antagonismus entspricht nun die verschiedenartige elektrische Ladung ihrer Ionen. Die Intensität ihrer Wirkung ist aber annähernd die gleiche. Dementsprechend ist ihre Stellung im periodischen System. Sie stehen dicht nebeneinander. Ihre Ordnungszahl differiert nur um 1. Anders ist es nun beim Natrium und Calcium. Ihre Wirkungsweise ist antagonistisch entsprechend ihrer verschiedenartigen elektrischen Ladung. Aber auch die Intensität ihrer Wirkung ist ganz verschieden. Die Natriumwirkung ist viel schwächer als die Calciumwirkung. Dementsprechend ist ihre Stellung im periodischen System. Ihre Ordnungszahl differiert um 9.

---

# Quantitative Studien über die Einwirkung von Aminosäuren auf Zuckerarten.

Von

**L. Grünhut † und J. Weber.**

(Mitteilung aus der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München.)

*(Eingegangen am 21. Mai 1921.)*

Den Melanoidinen, den Einwirkungsprodukten von Aminosäuren auf Kohlenhydrate, hat die Forschung der letzten Jahre erhöhte Aufmerksamkeit zugewandt. Abhandlungen darüber wurden veröffentlicht von A. R. Ling[1]), W. Duncan[2]), L. C. Maillard[3]), C. J. Lintner[4]) und W. Ruckdeschel[5]). Speziellere Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Aminosäuren auf d-Glukose wurden von Maillard und Ruckdeschel angestellt. Sie erkannten die Abhängigkeit der Reaktionsfähigkeit von der Art der angewandten Aminosäuren resp. Zucker und der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur. Maillard fand, daß die bei der Einwirkung von Glykokoll auf d-Glucose auftretende $CO_2$-Bildung auf der Spaltung der Carboxylgruppe der Aminosäure beruht und folgert daraus, in der Annahme, daß diese Abspaltung in Wechselbeziehung zur Bindung des Stickstoffs an dem Aldehydkohlenstoff des Zuckers steht —, daß wenigstens zwei Moleküle der Glukose in die Konstitution des neuen Stoffes eintreten. Auch Ruckdeschel kommt auf Grund der Analyse des gebildeten Farbstoffs zu der Annahme, daß zwei Moleküle Glukose

---

[1]) Journal of the Institute of Brewing **14**, 514. 1908.

[2]) Journal of the Institute of Brewing 1910, S. 164.

[3]) Cpt. rend. de l'Acad. des Sc. **154**, 66, 67. 1912; **156**, 1159, 1160. 1913 und Annales de chimie [9] **5**, 258—317.

[4]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **35**, 545—48. 1912.

[5]) W. Ruckdeschel, Über Melanoidine und ihr Vorkommen im Darrmalz. Diss. Techn. Hochschule München 1914.

mit einem Molekül der Aminosäure in Reaktion treten und unter Abspaltung von $CO_2$ aus der Carboxylgruppe der Aminosäure, die Aminogruppe mit der Aldehydgruppe der Glucose reagiert und unter Wasseraustritt, Kondensation und Polimerisation eine Anreicherung von C-Atomen im Glucosemolekül stattfindet. Den Rückgang des Aminosäurengehalts stellt er durch Formoltitration fest. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Amine und Aminosäuren nimmt in folgender Reihenfolge ab: zuerst die Amine, mit einigem Abstand Glykokoll, Alanin, Polypeptide und ganz zuletzt Leucin.

Um die bisherigen Kenntnisse des Reaktionsverlaufs zu erweitern und zu vertiefen, wurden die Umsetzungen unter neuen gleichartigen Bedingungen quantitativ verfolgt. Dies wird ermöglicht durch weitestgehende Anwendung der Formoltitrationsmethode[1]), der polarimetrischen Bestimmung der Änderung des Drehungsvermögens und der gewichtsanalytischen Bestimmung des Reduktionsvermögens mittels Fehlingscher (Ostscher) Lösung.

Es werden in Reaktion gebracht: l-Arabinose, d-Glukose, d-Galaktose, d-Fructose, Saccharose, Lactose, Maltose und Raffinose mit Glykokoll, Alanin, Leucin, Asparaginsäure und Glutaminsäure.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt: $^1/_{200}$ Grammolekül Aminosäure und $^1/_{200}$ Grammolekül Zucker wurden zu 200 ccm $CO_2$-freien Wassers gelöst (Urlösung). In dieser Lösung wurde mittels Formoltitration der Gehalt an Aminostickstoff und im 200 mm-Rohr bei 20° im Polarisationsapparat der Drehungswinkel bestimmt. Eine größere Anzahl Versuche zeigte, daß beim Erhitzen des Reaktionsgemisches auf dem Wasserbad oder auf dem Drahtnetz über freier Flamme am Rückflußkühler oder unter teilweisem Abdestillieren keine $CO_2$-Abspaltung eintrat.

Von der Beschreibung dieser Versuchsanordnung sei daher abgesehen. Dann wurden 150 ccm der Lösung auf dem Wasserbad in einer flachen Porzellanschale zur Trockne gedampft, der Rückstand zu 200 ccm Wasser gelöst (Lösung I). Von dieser Lösung I wurden 200 ccm der Formoltitration unterworfen, ein anderer Teil durch Polarisation in 200 mm-Rohr, ein dritter Teil (25 ccm) auf

---

[1]) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 38, 241. 1915; Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 29, 282. 1915; siehe insbesondere diese Zeitschr. 104, 31 ff. 1920 und Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 37, 304. 1919.

den Gehalt an unverändertem Zucker mittels Fehlingscher Lösung untersucht. 150 ccm der Lösung I wurden dann auf dem Wasserbad ein zweites Mal eingedampft, mit 150 ccm Wasser aufgenommen und abermals eingedampft. Der letzte Rückstand, der also von insgesamt dreimaligem Eindampfen herrührte, wurde zu 200 ccm gelöst (Lösung II), erforderlichenfalls filtriert, und untersucht wie Lösung I. Um festzustellen, ob bei der Reaktion der nicht mehr durch Formoltitration zu ermittelnde Stickstoff ganz verschwunden war, wurden in mehreren Fällen in der Lösung und auch im unlöslich gebliebenen Teil Gesamtstickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt. Die Ergebnisse der Formoltitrierung, der Polarisation und des Versuchs mit alkalischer Kupferlösung wurden für sämtliche Lösungen im Verhältnis der stattgefundenen Verdünnung auf die in der Urlösung vorhanden gewesene Konzentration umgerechnet. Zur Bestimmung des Drehungswinkels mußten dunkelgefärbte Lösungen durch Tierkohle entfärbt werden.

## Welche Aminosäuren und welche Kohlenhydrate sind reaktionsfähig?

Als Maßstab diente ausschließlich der Rückgang des formoltitrierbaren Stickstoffs, d. h. des Aminosäurenstickstoffs. Es folgte daraus die Abnahme der Reaktionsfähigkeit der drei einbasischen Monoaminosäuren mit steigendem Molekulargewicht. Am reaktionsfähigsten erwies sich Glykokoll, etwas schwächer Alanin, während Leucin unter den gegebenen Versuchsbedingungen überhaupt nicht bis zur Melanoidinbildung reagierte. Die zweibasischen Monoaminosäuren zeigen ein umgekehrtes Verhalten. Asparaginsäure zeigt nur auf Arabinose einen geringen Einfluß, während mit den anderen Zuckerarten überhaupt keine Melanoidinbildung stattfand. Dagegen ist die Glutaminsäure von den fünf untersuchten Aminosäuren die reaktionsfähigste. Diese Beobachtung steht mit den Angaben Maillards im Widerspruch, der Alanin als die am stärksten wirkende Aminosäure anspricht. Auch Ruckdeschel findet, daß Alanin langsamer reagiert als Glykokoll. Auffallend ist es hingegen, daß Lintner der Glutaminsäure nur eine „sehr träge“ Reaktionsfähigkeit zuschreibt. Es hängt das zweifellos damit zusammen, daß er den Grad der Umsetzung nach der Farbänderung beurteilt und diese bei der Glutaminsäure verhält-

nismäßig gering ist. Die von L. Radlberger und W. Siegmund[1]) ausgesprochene Vermutung der Melanoidinbildung bei der Einwirkung von Asparaginsäure auf Rohrzuckerlösungen bereits bei 60—80° als Ursache des beobachteten Abfalls der Inversionskonstante dürfte nach diesen Untersuchungen kaum zutreffen.

Von den angewandten Zuckerarten ist die Pentose l-Arabinose die reaktionsfähigste. Es folgen die Hexosen in der abnehmenden Reihe: d-Glukose, d-Galactose und d-Fructose. Die Wirkung der Aminosäuren auf Polysaccharide ist offenbar viel geringer. Wie weit die Wirkung auf einer primären Umsetzung mit den Polysacchariden oder erst auf einer sekundären Reaktion mit den aus diesen hervorgehenden Inversionsprodukten beruht, wird weiter unten erörtert.

### Die äußeren Eigenschaften der Reaktionsprodukte (Farbe, Löslichkeit, Dispersitätsgrad).

Je weiter die Umsetzung zwischen Aminosäuren und Kohlehydraten fortschreitet, desto dunkler färbt sich das Reaktionsgemisch, und zwar von gelb über braun, dunkelbraun bis schwarzbraun. Doch bedingt, wie in zwei Fällen gefunden wurde, eine Umsetzung nicht immer eine merkliche Verfärbung. Mit dem Fortschreiten der Reaktion nimmt die Wasserlöslichkeit des Reaktionsproduktes mehr und mehr ab, beträgt jedoch bei den hier angewandten geringen Konzentrationen nur in einigen Fällen wenige Prozente. Über den Dispersitätsgrad gab eine einfache qualitativ kolloidchemische Analyse, die in Diffusions- und Ultrafiltrationsversuchen bestand, näheren Aufschluß. Im löslichen Teil befindet sich der Farbstoff in molekulardisperser und in kolloider Phase in verschiedenem Verhältnis.

### Der Gesamtstickstoff.

Die Reaktion, von der hier die Rede ist, verläuft bekanntlich so, daß die Aminofunktion des Aminosäurenstickstoffs verschwindet. Bestimmungen des Gesamtstickstoffs nach Kjeldahl im fertigen Reaktionsprodukt, evtl. im löslichen und unlöslichen Teil gesondert und das Ergebnis summiert, bewiesen, daß keine Abspaltung von Stickstoff eingetreten war, daß es sich also ledig-

[1]) Österr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 48, 422. 1914.

lich um eine Veränderung der Rolle des Stickstoffs in strukturchemischer Beziehung handelt.

### Die Carboxylgruppe der Aminosäuren.

Zum Verständnis des Folgenden sei daran erinnert, daß sowohl bei der Titrierung der in Reaktion gebrachten Mischungen als auch der entstandenen Reaktionsprodukte zweierlei Aciditäten gemessen wurden; einmal diejenige, die unmittelbar gegen Neutralrot vorliegt, und zum anderen diejenige, die nach Zufügen von Formaldehyd und dadurch erfolgte Einführung der Methylengruppe in die Aminogruppe nun erst dem Phenolphtalein gegenüber in Erscheinung trat. Erstere Größe ist bekanntlich ein Maß für die Carboxylgruppen, soweit sie nicht in ihrer Wirkung auf den Indikator durch Aminogruppen kompensiert sind, letztere ein Maß für die durch die Aminogruppen kompensierten und somit auch für die Aminogruppen selbst.

Betrachtet man jetzt das Verhalten der drei Aminosäuren, die überhaupt merklich reagiert haben, nämlich Glykokoll, Alanin und Glutaminsäure, so ergibt sich zunächst ein grundsätzlicher Unterschied zwischen ersteren und der letztgenannten. Die Glutaminsäure, die gegen Neutralrot wie eine einbasische Säure wirkt, hat nämlich in keinem einzigen Versuch eine Zunahme ihrer Neutralrotacidität erfahren. In den meisten Fällen ist diese Acidität konstant geblieben, obwohl immer erhebliche Rückgänge im formoltitrierbaren Stickstoff (Verschwinden von Aminogruppen) auftraten. Daraus ergibt sich, daß tatsächlich für jede in Reaktion getretene Aminogruppe auch eine Carboxylgruppe verschwunden, d. h. abgespalten ist. Diese letztere Annahme wird durch einen blinden Versuch mit Glutaminsäure bestätigt, der zeigt, daß die von M. L. Roxas[1]) vermutete Umwandlung zur Pyrrolidon-$\alpha$-Carbonsäure unter den gegebenen Bedingungen nicht stattfindet.

Im Gegensatz zum Verhalten der Glutaminsäure steht das Verhalten des Glykokolls und Alanins. Im übrigen läßt sich bei diesen beiden Aminosäuren ein Unterschied feststellen in ihrem Verhalten gegen die Monosaccharide (l-Arabinose, d- Glucose, d-Galactose und d-Fructose) einerseits und die Polysaccharide (Maltose und Lactose) andererseits. Saccharose und Raffinose blieben praktisch ohne Wirkung. Bei allen Zuckerarten, die über-

[1]) Journ. of biol. chem. 27, 79 u. 81. 1916.

haupt mit Glykokoll und Alanin reagierten, ist eine Zunahme der Neutralrotacidität aufgetreten. Diese Zunahme ist bei den Polysacchariden praktisch gleich dem Rückgang der Aminogruppe (formoltitrierbarer Stickstoff), bei den Monosacchariden aber kleiner. Nach dem oben Vorausgeschickten muß das aber so gedeutet werden, daß bei den Polysacchariden die Reaktion ohne jede $CO_2$-Abspaltung aus der Carboxylgruppe vor sich geht, bei den Monosacchariden dagegen $CO_2$-Abspaltung (Carboxylgruppenzerstörung) zwar auftritt, aber nicht in stöchiometrischem Verhältnis 1 : 1 zu den verschwundenen Aminogruppen, sondern in einem Verhältnis, das kleiner ist als 1 und im übrigen in weiten Grenzen schwankt. Die $CO_2$-Abspaltung geht also langsamer vor sich als die eigentliche Reaktion der Aminogruppe.

### Die Aminogruppe der Aminosäuren.

Wenn die Aminogruppe der Aminosäuren derart an der Reaktion teilnimmt, daß sie ihren spezifischen Charakter einbüßt, so muß sich das praktisch in einem Rückgang des formoltitrierbaren Stickstoffs äußern. Ein solcher wurde auch tatsächlich beobachtet, und zwar hat sich der Aminosäurenstickstoff nach dreimaligem Eindampfen im äußersten Falle (Glutaminsäure und d-Glucose) um 87% der ursprünglichen Menge vermindert. Ähnliche Werte werden bei Glutaminsäure und Saccharose 85%) sowie bei Glutaminsäure und Lactose (85%) erreicht, während z. B. Glykokoll und die Monosen einen Rückgang des formoltitrierbaren Stickstoffs um 65—79% der Ausgangsmenge, Alanin und die Monosen sogar nur 35—63% der Ausgangsmenge aufwiesen.

Der Aminosäurenstickstoff ist am Schlusse der einzelnen Versuche noch niemals vollständig verschwunden, es haben vielmehr, wie aus den oben angeführten Beispielen hervorgeht, 13 bis 65% der in Reaktion gesetzten Menge noch ihre ursprüngliche Funktion beibehalten, d. h. sie sind nach Formaldehydzusatz acidimetrisch titrierbar. Um zu entscheiden, ob dieser Rest formoltitrierbaren Stickstoffs noch in Gestalt genau der gleichen Verbindung zurückbleibt, die von Anfang an in Reaktion gesetzt wurde, oder ob er bereits in eine andere Verbindung eingetreten ist, wurde nicht die gewöhnliche Formoltitration ausgeführt, sondern dieselbe als sogenannte Stufentitration zur Anwendung ge-

bracht, wie sie von S. P. L. Sörensen[1]) angegeben, namentlich aber von V. Henriques und J. K. Gjaldbaek[2]) durchgebildet und neuerdings von H. Lüers[3]) vereinfacht worden. Die bisherigen Erfahrungen haben gezeigt, daß das Verhältnis zwischen dem Laugenverbrauch für die einzelnen Stufen für verschiedene Aminosäuren, bezw. komplexe Produkte der Eiweißhydrolyse verschieden ist, und daß bis zu einem gewissen Grade jenes Verhältnis ein spezifisches Kennzeichen der einzelnen Aminosäuren ist.

Ist im gegebenen Falle der formoltitrierbare Stickstoff, der in der Reaktionsmischung am Schlusse noch übrig ist, noch immer Bestandteil eines unverändert gebliebenen Anteils der Ausgangsaminosäure, so muß das Verhältnis der einzelnen Stufen jetzt noch das gleiche sein, das schon vor Einleitung der Reaktion bestand. Hat sich dagegen dieses Verhältnis geändert, dann muß die formoltitrierbare Gruppe in Form einer anderen Verbindung zugegen sein wie zuvor. Trägt man die Ergebnisse der Stufentitration in Schaubildern auf, was hier aus Raummangel nicht wiedergegeben werden kann, wobei als Abszissen die Stufen 1—4, als Ordinaten die verbrauchten Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$-Lauge bei der Titrierung der ursprünglichen Mischung, des Reaktionsproduktes nach einmaligem und weiter nach dreimaligem Eindampfen aufgetragen sind, so zeigen die erhaltenen Kurven auf den ersten Blick, daß jede Proportionalität im obigen Sinne fehlt, daß sich die Kurven in nicht seltenen Fällen sogar schneiden. Vor allem aber ist in den meisten Fällen der Laugenverbrauch für die erste Stufe nach einmaligem Eindampfen nicht unerheblich größer als bei der ursprünglichen Mischung, während doch der endgültige Verbrauch bei der vierten Stufe schon immer merklich, oft sogar erheblich gefallen ist.

Diese Beobachtungen deuten auf folgenden Reaktionsverlauf zwischen Aminosäuren und Kohlenhydraten hin. In einem ersten Stadium reagieren die beiden Stoffarten derart aufeinander, daß im Reaktionsprodukt noch die Aminogruppe vorhanden ist. Diese neuen komplexen Aminosäuren zeigen dann eben das veränderte Verhältnis bei der Stufentitration. Von Anfang an unterliegen

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 31. 1909.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 511. 1911; 75, 363.

[3]) Diese Zeitschr. 104, 31 ff. 1920 und Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 37, 304. 1919.

die komplexen Aminosäuren einem zweiten Reaktionsstadium, bei dem die Aminofunktion des Stickstoffs — sei es durch Substitution, sei es durch Kondensation — verloren geht. Endlich geht als drittes selbständiges Reaktionsstadium — wie weiter oben bereits gezeigt wurde — die Carboxylgruppe durch $CO_2$-Abspaltung in Verlust. Das Reaktionsprodukt, wie es bei diesen Versuchen erhalten wurde, dürfte nach den bisherigen Betrachtungen durchaus nicht einheitlich sein, sondern vielmehr ein Gemisch der Produkte dieser drei Reaktionsstadien.

Da nach L. Grünhut bei der Formoltitration das Verhältnis der ersten und zweiten Titrierstufe zur vierten Stufe eine Funktion der Dissoziationskonstante der betreffenden Aminosäure ist, d. h. je kleiner diese, je schwächer also die Säure ist, um so kleiner der Wert der ersten Stufe im Verhältnis zur vierten ist, bei den ausgeführten Untersuchungen aber die erste Stufe gewachsen, die vierte aber schon gefallen, das Verhältnis also demnach stark in die Höhe gegangen ist, so beweist das, daß die komplexen Aminosäuren, deren Bildung in diesem ersten Stadium soeben vorausgesetzt wurde, stärkere Säuren sind als die ursprünglich angewandten Aminosäuren.

## Die Polarisation und das Reduktionsvermögen gegen Fehlingsche Lösung.

Die einbasischen Monoaminosäuren bewirken mit Saccharose ohne selbst angegriffen zu werden, erst beim dreimaligen Eindampfen eine schwache Inversion verbunden mit einem Rückgang der Polarisation. Da nach Clerget[1]) 100° Rechtsdrehung nach der vollständigen Inversion 32,7° Linksdrehung (bei 20°) entsprechen, die Änderung der Drehung also 132,7° entspricht, so ergibt sich für die für die angewandte Menge Saccharose errechneten + 1,14° vor der Inversion eine Drehungsänderung von insgesamt 1,51° bei vollständiger Inversion. Die Polarisation ging bei Saccharose und Glykokoll nach dem dreimaligen Eindampfen von + 1,15° auf + 0,74°, also um 0,41° zurück; das sind 27% des eben berechneten theoretischen Wertes. Demgegenüber waren, gemäß dem Versuch mit Fehlings Lösung, nur 5,3% der angewandten Saccharose in der braungelben Reaktionsmasse als Invertzucker aufzufinden. Bei Saccharose und Alanin ergaben sich die

[1]) Lippmann, Chemie der Zuckerarten. 3. Aufl., S. 1379.

Werte 5% und 2,7%, bei Saccharose und Leucin nahm die Rechtsdrehung nicht ab, sondern sogar etwas zu, die invertierte Saccharosemenge betrug 4,5%.

Beim Glykokoll ist also eine verhältnismäßig starke Inversion eingetreten, aber der gebildete Invertzucker ist nicht mehr als solcher vorhanden, sondern zum größten Teil verschwunden. Dies kann nur so gedeutet werden, daß er mit dem Glykokoll unter Melanoidinbildung weiter reagiert hat. Beim Alanin war die Inversion weit schwächer und der weitere Angriff des gebildeten Invertzuckers nur unerheblich; beim Leucin war die Einwirkung praktisch gleich Null. Bei diesen Angaben ist zu berücksichtigen, daß sie lediglich qualitative Bedeutung haben. Man darf nämlich nicht erwarten, daß von dem gebildeten Invertzucker der Glucose- und Fructoseanteil mit gleicher Reaktionsgeschwindigkeit reagiert, d. h. daß zu gleichen Zeiten ebensoviel Glucose wie Fructose zur Melanoidinbildung verbraucht wird. Für den zurückgebliebenen Anteil gilt demnach der Drehungswert des Invertzuckers nicht mehr.

Die Inversion ist bei den zweibasischen Monoaminosäuren (Asparaginsäure und Glutaminsäure) entsprechend dem stärkeren Säurecharakter größer. Bereits bei einmaligem Eindampfen der Lösung von Saccharose und Asparaginsäure beträgt der Inversionsgrad nach der polarimetrischen Bestimmung 43%, nach der gravimetrischen gleichfalls 43%; nach dreimaligem Eindampfen 77% und 75%. Hier ist also nur Inversion eingetreten. Mit Glutaminsäure geht die Saccharose schon beim Erhitzen der Lösung auf dem Wasserbade nahezu vollständig in Invertzucker über. Erst dieser tritt mit Glutaminsäure in Reaktion, was durch den Rückgang des Invertzuckergehalts und des Aminosäurestickstoffs bei der weiteren Einwirkung (d. h. beim Eindampfen zur Trockne) zum Ausdruck kommt. Der weitere Polarisationsrückgang spricht für eine Linksdrehung des Reaktionsprodukts.

Nicht so übersichtlich wie bei Saccharose liegen die Verhältnisse bei den anderen untersuchten Polysacchariden. Bei der Einwirkung von Leucin auf Maltose trat weder Melanoidinbildung noch Inversion ein. Bei Asparaginsäure und Maltose fand lediglich ein geringer Rückgang des Drehungsvermögens statt. Bei Glutaminsäure und Maltose ist ein stärkerer Rückgang der Polarisation und eine geringe Zunahme des Maltosewertes beim Fehling-

versuch zu beobachten. Es muß also, falls Inversion eingetreten ist, Glucose verbraucht worden und, da gleichzeitig der Aminosäurenstickstoff stark zurückging, Melanoidinbildung eingetreten sein.

Bei Maltose und Glykokoll, sowie bei Maltose und Alanin traten gleichfalls starke Polarisationsrückgänge bei nur kaum verändertem Maltose-Kupferwert auf; dabei war der formoltitrierbare Stickstoff unverändert geblieben, eine Melanoidinbildung also nicht eingetreten. Es herrschen hier die gleichen, vorläufig noch nicht aufgeklärten-Verhältnisse, wie beim Asparaginsäureversuch.

Bei Lactose bestehen den fünf untersuchten Aminosäuren gegenüber genau die gleichen Beziehungen wie bei Maltose.

Glykokoll und Alanin reagierten mit Raffinose nicht, während bei Leucin und Asparaginsäure nur Inversion eintrat, und bei Glutaminsäure die Reaktion bis zur Melanoidinbildung weiter ging.

Bei den Monosen hätte man zunächst erwarten sollen, daß in den Fällen, in denen kein Rückgang des folmoltitrierbaren Stickstoffs beobachtet wurde — also bei Leucin und bei Asparaginsäure —, d. h. keine Melanoidinbildung eintrat, auch die Polarisation und das Kupferreduktionsvermögen unverändert bleiben würden. Das trifft aber höchstens für Galactose und Leucin zu; in allen andern Fällen erleidet vor allem die Polarisation einen merklichen Rückgang, indem ihr Betrag nach dreimaligem Eindampfen auf 87 bis 20% des Anfangswertes gesunken ist. Viel geringer ist dagegen der gleichzeitige Rückgang des Kupferreduktionsvermögens; er beträgt meistens nur wenige Prozente und erreicht lediglich bei Arabinose merklich höhere Beträge. Diese Ergebnisse sprechen dafür, daß auch hier, trotz Unversehrtheit der Aminofunktion, dennoch Reaktion eingetreten ist, d. h. sie führen zu denselben Schlüssen, wie sie weiter oben auf die Betrachtung der Ergebnisse der Stufentitration aufgebaut wurden. Man muß die Bildung komplexer Aminosäuren, die vorhin als Vorstufe der Melanoidinbildung erschlossen wurde, auch für Leucin und Asparaginsäure annehmen, nur daß bei ihnen die folgenden Reaktionsstufen, die bis zu den Melanoidinen selbst führen, unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht zur Verwirklichung gelangen können. Die komplexen Aminosäuren haben in diesen Fällen ein wesentlich anderes spezifisches Drehungsvermögen als die Zucker-

arten, während — höchstens mit Ausnahme der Arabinose — das Kupferreduktionsvermögen nur unerheblich beeinflußt wird.

In den hier besprochenen Fällen (Leucin bezw. Asparaginsäure und Monosen) ist nicht nur das Schlußergebnis der Formoltitration unverändert geblieben, sondern auch die einzelnen Stufen sind gar nicht oder nur unerheblich beeinflußt. Es sind also bei Leucin und Asparaginsäure, im Gegensatz zu dem früher besprochenen Verhalten des Glykokolls, Alanins und der Glutaminsäure, die komplexen Aminosäuren, auf deren Bildung auch bei ihnen soeben geschlossen wurde, ebenso schwache Säuren wie die Aminosäuren, von denen man ausging. Vielleicht ist es kein Zufall, daß nun bei ihnen die Reaktion bei der Bildung dieser schwachen komplexen Aminosäuren stehenblieb, während sie dann, wenn stärkere komplexe Aminosäuren gebildet wurden, bis zur Melanoidinbildung weiter schreiten konnte. Entstehung stärkerer komplexer Aminosäuren scheint demnach eine Vorbedingung für die eigentliche Melanoidinbildung zu sein.

Das Verhalten der Monosen zum Glykokoll, Alanin und zur Glutaminsäure fügt sich auch in bezug auf Veränderung der Polarisation und des Kupferreduktionsvermögens in das hier gezeichnete Bild glatt ein.

Leider ist es nicht möglich, an dieser Stelle das umfangreiche Tabellenmaterial, das der Abhandlung zugrunde liegt, zu veröffentlichen, es kann hier nur darauf verwiesen werden.

# Eine Mikromethode der Stickstoffbestimmung.

Von

**D. Acél.**

(Aus dem Hyg. Institut der Universität in Budapest.)

*(Eingegangen am 27. Mai 1921.)*

Die weiter unten zu besprechende Mikronitrogenbestimmung — die von uns seit mehr als zwei Jahren mit gutem Erfolg angewandt wurde — unterscheidet sich von den bisher gebrauchten bekannten Mikronitrogenbestimmungen wesentlich dadurch, daß das Ammoniak, welches nach Zerstörung der organischen Substanzen mit konz. Schwefelsäure entsteht, nicht abdestilliert, sondern daß es in demselben Gefäß, wo die Zerstörung vor sich ging, mit Nesslerschem Reagens auf colorimetrischem Wege bestimmt wird.

Durch diese Methode wird einerseits die Destillation ausgeschaltet, andererseits vermeidet man auch die zur Titrierung nötigen genau eingestellten Säuren und Laugen.

Obwohl Folin in seiner Methode zur Bestimmung des Ammoniaks bereits das Nesslersche Reagens anwendet, behält er trotzdem das Abdestillieren bei. Gullick[1]) arbeitete eine im wesentlichen gleiche, in der Ausführung aber verschiedene, der unseren an Genauigkeit nicht gleichstehende Methode zur Bestimmung des Stickstoffgehaltes im Harn aus. Die amerikanische Literatur stand uns weder während des Krieges noch in der darauffolgenden Periode zur Verfügung, und wir hatten mit unserer Methode schon längere Zeit gearbeitet, als uns diese im wesentlichen gleiche Methode bekannt wurde.

Mit unserer Methode kann der Stickstoffgehalt einer jeden gelösten organischen Substanz bestimmt werden. Die Empfindlichkeit des Nesslerschen Reagens für Ammoniak ist eine so außerordentlich große, daß ganz kleine Mengen des zu untersuchenden Materials genügen (z. B. genügen zur Bestimmung des

---

[1]) Journ. of biol. chem. **18**, 547.

Gesamtstickstoffs im Serum 1—3 mg, zur Bestimmung des Rest-N 25—30 mg). Für so kleine Untersuchungsmengen bedarf man nur weniger Chemikalien. Und da zur Bestimmung keine besonderen Apparate nötig sind, so ist die Methode einfach und billig. Die Verarbeitung kleiner Mengen geht rasch.

Zur Bestimmung sind erforderlich:

1. Jenaer Eprouvetten von gleicher Größe (20 mm Durchmesser, 180 mm Höhe).

2. Eine sog. Mikrobürette (3 ccm Inhalt in $^1/_{100}$ ccm eingeteilt).

3. Eine Pipette von 1 ccm Inhalt in $^1/_{100}$ ccm eingeteilt.

Bürette und Pipette müssen ganz genau sein. Darum ist es notwendig, entweder mit sog. beglaubigten Pipetten und Büretten zu arbeiten oder aus Mangel an solchen dieselben selbst zu kalibrieren.

4. Konz. ammoniakfreie Schwefelsäure.

5. Natronlaugelösung (50 g NaOH + 100 g Wasser).

6. Nesslersches Reagens. Darstellungsmethode nach L. W. Winklers Vorschrift:[1])

| | |
|---|---|
| „Mercurijodid | 10 g |
| Kaliumjodid | 5 g |
| Natriumhydroxyd | 20 g |
| Destilliertes Wasser | 100 ccm. |

Das Mercurijodid wird in einem kleinen Porzellanmörser mit Wasser verrieben, dann in eine Flasche gespült und das Kaliumjodid zugesetzt; das Natriumhydroxyd wird in dem Reste des Wassers gelöst und die vollständig erkaltete Lauge mit dem übrigen gemengt. Das fertige Reagens wird im Dunkeln aufbewahrt. Zur Verwendung kommt dieses Reagens erst nach einigen Tagen, nachdem es sich durch Sedimentation vollkommen geklärt und auch die Auskrystallisierung des überschüssigen Mercurijodids sich nahezu vollzogen hat. Das so dargestellte Reagens ist eine blaßgelbe, ätzende Flüssigkeit vom spezifischen Gewichte 1,28. — Zur Aufbewahrung dieses Reagens, sowie auch anderer stark alkalischer Flüssigkeiten, sind Flaschen mit Glasstöpsel weniger geeignet, da der Stöpsel mit dem Flaschenhals leicht verkittet; sehr geeignet erweisen sich jedoch gute Korkstöpsel, die in geschmol-

[1]) Lunge-Berl, Chemisch-technische Untersuchungsmethoden. Bd. II, S. 263.

zenes Paraffin getaucht noch im warmen Zustande in den trockenen Flaschenhals eingesetzt wurden."

7. Seignettesalzlösung. Herstellung nach L. W. Winklers Vorschrift[1]):

„50 g krystallisiertes Seignettesalz werden in 100 ccm warmem Wasser gelöst und die filtrierte Lösung, um sie vor Schimmel zu schützen, mit 5 ccm Nesslerschem Reagens versetzt. Auch diese Lösung ist im Dunkeln aufzubewahren. Da das käufliche Seignettesalz fast immer Spuren von Ammoniak enthält, so ist die Flüssigkeit anfänglich gelblich, sie wird jedoch nach 2—3 tägigem Stehen farblos."

8. Ammoniumchloridlösung. Die Lösung soll so hergestellt werden, daß jeder Kubikzentimeter 0,05 mg Stickstoff enthält. (Es kann auch eine verdünntere Lösung verwendet werden, von welcher jeder Kubikzentimeter 0,01 mg N enthält.) Zur Herstellung der Ammonchloridlösung muß chemisch reines Ammoniumchlorid verwendet werden. Verfügen wir über solches nicht, so wird der tatsächliche N-Gehalt des Ammonchlorides nach Kjeldahl bestimmt, und der gefundene Wert wird bei der Herstellung der Lösung in Betracht gezogen. (Statt Ammoniumchlorid kann man auch Ammoniumsulfat verwenden.)

Der Gang der Bestimmung ist folgender:

Von dem zu untersuchenden Material wird eine abgewogene Menge (siehe unten) in eine Jenaer Eprouvette gebracht und mit 0,05 ccm konz. Schwefelsäure versetzt. In einer Eprouvette von gleicher Größe — die als Kontrolle dient — wird nur Schwefelsäure gegeben (ohne das zu untersuchende Material). Während des weiteren Verlaufs der Bestimmung wird diese Kontroll-Eprouvette der gleichen Behandlung unterworfen wie die Untersuchungseprouvetten. Die Eprouvetten werden auf kleiner Flamme erhitzt. Nach Verdampfen des Wassers wird die Flüssigkeit braun, nach weiterem Erhitzen in kurzer Zeit, in 4—5 Minuten, farblos. Die Anwendung eines Katalysators ist unnötig. Hierauf werden 10 ccm ammoniakfreies dest. Wasser und 0,3 ccm der Natronlauge zugesetzt. Darauf wird zu dem Inhalt der Eprouvette 0,5 ccm Seignettesalzlösung und endlich 0,5 ccm Nesslersches Reagens gegeben.

---

[1]) L. c.

Nach Zusatz des Nesslerschen Reagens wird die Flüssigkeit gelb, gelblichbraun oder braun, gemäß der Menge des in der Flüssigkeit vorhandenen Ammoniaks. Waren die angewendeten Chemikalien ammoniakfrei, so zeigt die Flüssigkeit in der Kontrollröhre nur eine so geringe Gelbfärbung, wie sie durch das etwas gelbliche Nesslersche Reagens selbst verursacht wurde. Wenn das Nesslersche Reagens gut hergestellt ist und die oben angegebenen Vorschriften eingehalten werden, erzielt man in den Eprouvetten eine Färbung ohne jegliche Trübung. Manchmal entsteht eine kaum merkbare Trübung, dies stört jedoch bei der Colorimetrie nicht.

Die quantitative Bestimmung des Ammoniaks wird nun so ausgeführt, daß man die Mikrobürette mit der Ammoniakchloridlösung füllt und in die farblose (oder nur kaum gelbliche) Kontrollröhre solange Ammonchloridlösung tropfen läßt, bis die hier entstandene Färbung mit der in den übrigen Eprouvetten entstandenen Färbung genau gleich wird. Die verbrauchte Ammonchloridmenge zeigt, wieviel Ammoniak, bzw. wieviel N in dem zu untersuchenden Material vorhanden war.

Die colorimetrische Bestimmung wird in der Weise vorgenommen, daß man die Eprouvetten an gut beleuchteter Stelle (womöglich bei Tageslicht) auf weiße Papierbogen stellt und von der Seite durchschaut. Auf diese Weise kann man mit etwas Übung die feinsten Nuancedifferenzen präzis unterscheiden.

## Einige Anwendungen der Mikronitrogenbestimmung.

Zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs im Serum genügt 0,001—0,003 ccm Blutserum. Zwecks Abmessung wird das Serum verdünnt, z. B. in der Weise, daß man 0,25 Serum auf 100 Wasser nimmt und von dieser Verdünnung 0,5 verwendet. Im weiteren verfährt man wie vorher angegeben:

Zur Bestimmung des sog. Reststickstoffs ist 0,02 bis 0,025 ccm Serum nötig. In ein Zentrifugenröhrchen (an welchem das Volum von 3 ccm bezeichnet ist) gibt man mit einer Pipette 1—1 $^{1}/_{2}$ ccm Phosphormolybdänsäure und pipettiert 0,25 ccm von dem zu untersuchenden Serum dazu; dann wird das Ganze bis zu der Marke mit Phosphormolybdänsäure[1]) aufgefüllt.

[1]) Phosphormolybdänsäure nach Bang: 0,5% Phosphormolybdänsäure + 0,5% konz. Schwefelsäure + 0,5% Natronsulfat. Man kann zum Abscheiden des Eiweißes auch andere Flüssigkeiten verwenden, z. B. das Uranylacetat.

Man schüttelt das Ganze gut durch und läßt es eine halbe Stunde ruhig stehen. Hierauf wird der Niederschlag scharf abzentrifugiert. Von der über dem Niederschlag stehenden, klaren Flüssigkeit werden 0,25 ccm abpipettiert, in Jenaer Eprouvetten gebracht, mit Schwefelsäure zerstört und weiter so behandelt, wie oben vorgeschrieben.

N-Bestimmung im Harn. Zur Bestimmung ist 0,001 bis 0,003 ccm Material nötig. Um diese kleine Menge genau abmessen zu können, werden 0,5 ccm Harn auf 100 verdünnt und davon 0,25 ccm in der obenbeschriebenen Weise verarbeitet.

Die nach der beschriebenen Methode ausgeführten Bestimmungen wurden einerseits mit solchen Materien ausgeführt, deren N-Gehalt bekannt war, andererseits zeigten die mit dieser Methode parallel ausgeführten Kjeldahl-Bestimmungen, daß man nach dieser Methode bis auf eine Genauigkeit von 1—2% arbeiten kann.

---

# Physikalisch-chemische Untersuchungen an Körperflüssigkeiten.

## IV. Der Zustand des Zuckers im Serum.

Von

**Stefan Rusznyák** und **Géza Hetényi.**

(Aus der III. mediz. Klinik der Universität in Budapest.)

*(Eingegangen am 27. Mai 1921.)*

In einer früheren Arbeit hat der eine von uns über Untersuchungen berichtet, welche zu dem Ergebnisse führten, daß bei der Ultrafiltration ein Teil der reduzierenden Substanz des Blutes sich als unfiltrierbar erweist[1]). Damals konnte es noch nicht entschieden werden, ob dieser kolloidale Anteil der reduzierenden Substanz ein Kohlenhydrat ist oder nicht und es wurde die Vermutung ausgesprochen, daß sie vielleicht mit der sog. Restreduktion identisch sein könnte.

Zur Entscheidung dieser Frage sind wir auf folgende Art vorgegangen: das Serum von Kranken wurde in der im obengenannten Artikel beschriebenen Weise ultrafiltriert. Nun wurde die Gesamtreduktion sowohl im Originalserum wie auch im Ultrafiltrate bestimmt. Zu einer anderen Portion wurde Hefe zugesetzt und nach Beendigung der Vergärung die Restreduktion ermittelt.

Bei der Bestimmung der Restreduktion bedienten wir uns der von Rich. Ege angegebenen Methode[2]). Zuerst haben wir also Untersuchungen über den Gehalt der verwendeten Hefe an reduzierenden Stoffen angestellt, die zu dem Ergebnisse führten, daß dieselben nur verschwindende Mengen von reduzierender Substanz enthält. Bei den Hauptversuchen benützten wir eine 0,1 proz. Glucoselösung in physiol. Kochsalzlösung als Kontrollflüssigkeit. Die Bestimmungen wurden solange fortgesetzt, bis die Kontrollflüssigkeit etwa 0,002% Glucose enthielt, oder bis das Reduktionsvermögen der Blutprobe in den letzten 24 Stunden sich nicht verändert hat.

---

[1]) **Rusznyák**, diese Zeitschr. **113**, 52.

[2]) **Ege**, diese Zeitschr. **107**, 229.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle niedergelegt. Es wurden insgesamt 5 Sera untersucht.

| Fälle | Gesamtreduktion | | Restreduktion | | Restreduktion der Kontrollflüssigkeit |
|---|---|---|---|---|---|
| | Serum | Ultrafiltrat | Serum | Ultrafiltrat | |
| 1. Nephritis acuta . . . | 0,139 | 0,119 | 0,023 | 0,020 | 0,002 |
| 2. Diabetes Nephroskler. | 0,145 | 0,126 | 0,029 | 0,029 | 0,001 |
| 3. Diabetes . . . . . . | 0,240 | 0,215 | 0,015 | 0,015 | 0,002 |
| 4. Nephrosklerose . . . | 0,103 | 0,086 | 0,022 | 0,014 | 0,002 |
| 5. Nephrosklerose . . . | 0,093 | 0,072 | 0,018 | 0,015 | 0,001 |

Die ersten zwei Kolumnen bestätigen zunächst unsere früheren Befunde; in sämtlichen Fällen ist nämlich der Gehalt des Serums an reduzierenden Substanzen größer als derjenige des Ultrafiltrates. Die weiteren Kolumnen zeigen, daß die Größe der nach Vergärung des Zuckers verbleibenden sog. Restreduktion sowohl im Serum als auch im Ultrafiltrate dieselbe ist (vielleicht mit Ausnahme des Falles 4). Die Differenz in der Gesamtreduktion des Serums und des Ultrafiltrates scheint also nach diesen Untersuchungen nicht durch die Restreduktion bedingt, sondern beruht tatsächlich in der Unfiltrierbarkeit eines Teiles des Serumzuckers.

Auffällig ist der relativ hohe Wert der Restreduktion im Gegensatz zu Eges Untersuchungen. Dies erklärt sich einerseits durch die Verschiedenheit unserer Methodik (wir gebrauchten die ursprüngliche Bangsche Mikromethode), da nach den Untersuchungen Eges die Restreduktion bei verschiedenen Methoden eine verschiedene Größe darstellt. Andererseits ist vielleicht auch der Umstand von Einfluß, daß wir hauptsächlich Sera von Nierenkranken untersuchten bei welchen bekanntlich eine beträchtliche, Zunahme N-haltiger, teilweise reduzierender Substanzen (Kreatin, Kreatinin, Harnsäure usw.) stattfindet. In dem einzigen Falle, wo keine Nierenerkrankung vorlag, fand sich tatsächlich der geringste Wert für die Restreduktion (Fall 3).

## Zusammenfassung.

Bei der Ultrafiltration von Serum ist der Gehalt an reduzierenden Substanzen im Originalserum größer als im Ultrafiltrate. Dieser Unterschied ist durch den kolloidalen, nicht ultrafiltrierbaren Zustand eines Teiles des Serumzuckers bedingt. Die Größe dieses kolloidalen Anteiles ist unabhängig von der Konzentration des Gesamtzuckers, ist ziemlich konstant und beträgt ungefähr 0,02—0,03 g in 100 g Serum.

# Zur Frage antigener Fettwirkungen.

Von

H. Beumer.

(Univ.-Kinderklinik Königsberg.)

*(Eingegangen am 30. Mai 1921.)*

Seit dem ersten lange zurückliegenden Versuch Bangs und Forssmanns, in dem von ihnen aufgefundenen Hämolysinogen einer Fettsubstanz antigene Eigenschaften zuzuschreiben, und dem darauffolgenden lebhaften Meinungsaustausch zwischen den Autoren einerseits und Ehrlich und Morgenroth andererseits stehen sich auch heute noch trotz zahlreicher Forschungen die Ansichten über diese Frage schroff oder unsicher gegenüber und werden um so heftiger diskutiert, als sich auf dem Prinzip immunisierender Fähigkeiten der Fette wichtige weitverbreitete Behandlungsmethoden aufgebaut haben (Nastin-Deycke, Tuberkulose-Partigene, Deycke-Much, Staphar Strubell, Tebelon Stöltzner), denen bei Verneinung dieser Fettwirkungen jeder Boden entzogen würde. Man hat inzwischen gelernt, daß die Fette keineswegs so einfach aufgebaut und biologisch indifferent sind, wie früher angenommen wurde, sondern eine Reihe lebenswichtigster Substanzen enthalten. Hierbei sind die Fette allerdings lediglich die Träger dieser in ihnen aufgelösten Vitamine und es fragt sich, ob bei den in Frage gestellten antigenen Lipoiden nicht ähnliche Verhältnisse vorliegen, die die Annahme besonderer Antigenfette überflüssig machen. Die „Verunreinigung" der Fette und Abnahme ihrer Wirksamkeit mit fortschreitender Analysenreinheit ist daher stets das stärkste Argument der Gegner der antigenen Lipoidwirkungen gewesen (Morgenroth, Bürger und Möllers u. a.).

Einen interessanten Beitrag zu dem Zusammenhang von Bakterienfetten und immunibiologischen Phänomenen hat Stuber[1]) geliefert, indem er aus Bakterienkulturen nach Vorverdauung mit Trypsin und Pepsin und Aufschließung durch das Verfahren nach Kumagawa-Suto Fettextrakte herstellte und ihre Wirkung auf

Menschen und Tiere nach subcutaner Injektion verfolgte. Das Ergebnis dieser Versuche war ein regelmäßiges Auftreten von mehr oder weniger hohen Agglutinationstitern gegen Typhus und Ruhrbacillen, so daß Stuber den Beweis für erbracht hielt, in den Bakterienfetten die eigentlichen Agglutinogene gefunden zu haben, die sich als relativ unspezifisch erwiesen, indem auch nach Injektion von Tuberkelbacillenfetten positiver Ruhr- und Typhus-Widal auftrat. Als eigenartigen Nebenbefund führt Stuber noch eine den Fettinjektionen folgende rapide Gewichtszunahme seiner Versuchstiere an.

Meine hier mitgeteilten Versuche waren bereits Mitte 1919 beendet. Inzwischen erschien vor kurzer Zeit eine Untersuchung von Borčic[2]), die sich mit einer genauen Nachprüfung der Stuberschen Arbeit befaßt und zu einer völligen Ablehnung seiner Befunde kommt. Borčic folgte dabei bis ins einzelne dem Vorgehen Stubers; trotzdem gelang es ihm nicht, außer ganz belanglosen Agglutinationstitern, die höchst schwankend und unregelmäßig verliefen, mit Typhus- und Cholera-Fetten Komplement- und Präcipitin-Bildung zu erzeugen. In dieser Arbeit findet sich zugleich eine eingehende Kritik der Ergebnisse Stubers.

Was bei den Stuberschen Untersuchungen sofort auffallen mußte, war die für biologisch wirksame Substanzen höchst ungewöhnliche Resistenz seiner agglutinogenen Fette gegenüber dem eingreifenden chemischen Aufschließungsverfahren, wie es die Methode Kumagawa-Suto darstellt, bei der durch energisches Verseifen mit Natronlauge alle bekannten Lipoide gespalten werden. Stuber spricht die Vermutung aus, daß seine ätherlöslichen agglutinogenen Körper der Gruppe der drei höheren Fettsäuren angehören.

Da die Frage der antigenen Natur der Bakterienfette mittels Komplementbindungsverfahrens an den gewöhnlich zur Verfügung stehenden Laboratoriumstieren (Kaninchen, Meerschweinchen) nicht zu lösen war und selbst ein negativer Befund nicht als beweiskräftig angesehen werden würde (gekreuzte Antikörperbildung Strubells), so versuchte ich, in Anlehnung an die Versuche Stubers die Wirkung komplizierter nichtgespaltener Fette zu verfolgen. Ich benützte dabei:

1. die Muchschen Tuberkulose-Partigene F und N in Emulsionen von 1 : 1000 und 1 : 10200.

2. Tebelon, einen wachsartigen Körper, der von Stöltzner in die Tuberkulosetherapie eingeführt wurde und nach seinen An-

gaben den Bakterienwachsen nahestehen und die Gramfärbung annehmen soll.

3. Hefeextrakt*), hergestellt durch Vorbehandlung frischer Hefe mit verdünnter Milchsäure, Extraktion mit Alkohol und Äther, Trocknung bei niedriger Temperatur.

Über die erzielten Resultate kann ich summarisch berichten:

I. Subcutane Einspritzung von F- und N-Partigenen āā alle 3 Tage während eines Monats, steigend $^1/_{10}$—$^1/_2$ ccm bei 2 jungen Meerschweinchen (1 Woche alt).

In derselben Weise bei je 2 weiteren 1 wöchigen Meerschweinchen Einspritzungen von Tebelon (0,2—1 ccm) und Hefeextrakt ($^1/_4$—1 ccm) während eines Monats.

Ständig ausgeführte Wägungen ergaben im Vergleich mit den Kontrollen bei den gespritzten Tieren keine abnormen Gewichtsanstiege oder gesteigerte Wachstumsäußerungen. (Nebenher sei erwähnt, daß dieser Hefeextrakt in konzentrierter Form nach Zusatz zur Nahrung von 3 ständig nicht gedeihenden Säuglingen keinen Einfluß auf die Gewichtskurve zeigte.)

II. Behandlung je zweier alter Meerschweinchen mit den 3 Fetten während eines Monats. Am 2., 5., 14. und 28. Tage Widal gegen Typhus und Ruhr negativ.

III. Behandlung zweier Pirquet-positiver Kinder während 2 Monaten mit Tebeloneinspritzungen (wöchentlich 1 ccm). Mehrfach vorgenommener Widal negativ. 2 mal Flexner 1 : 50+. Bei dem einen Kinde trat während der Behandlung eine Phlyktäne auf. Kompl. Bindungsreaktion gegen Tebelon gelang nicht, da selbst konzentriertes Tebelon keine hemmende Wirkung gegenüber dem hämolytischen System besitzt.

IV. Einspritzung von F- und N-Partigenen bei 2 tuberkulösen Kindern. Widal stets negativ.

Weiterhin wurde endlich noch bei der Suche nach irgendeiner greifbaren biologischen Reaktion des Organismus auf die parenterale Zufuhr dieser Fette das Verhalten der Serumlipase geprüft. Diese ist eine unspezifische oder, wie Much es nennt, unabgestimmte Lipase. Nehmen wir nun mit den Autoren der Fettkörpertherapie an, daß durch die Injektion der antigenen Fette die Fettantikörperbildung angeregt werden soll, deren Wirkungsweise wir uns irgendwie in einer lipolytischen Betätigung vorstellen müssen, so war daran zu denken, daß dabei analog den Vorgängen bei der unspezifischen Eiweißkörpertherapie hier umgekehrt durch einen spezifischen Reiz die unspezifische Serumlipase eine Steigerung erfahren könnte. Es wurde daher mittels des stalagmometrischen

*) Aus 1 kg frischer Hefe wurden $^1/_4$ g ätherlöslicher Extrakt gewonnen, dieser in 100 ccm phys. NaCl-Lösung emulsioniert.

Verfahrens das Verhalten der Serumlipase nach den Injektionen von Tuberkulose-Partigenen, Hefeextrakten und Tebelon an Meerschweinchen, Kaninchen und tuberkulösen Kindern verfolgt. Auch hierbei ergaben sich nur negative Resultate. Niemals wurde ein erhöhtes lipolytisches Vermögen im Blutserum konstatiert, bei massigen, Kaninchen intravenös injizierten Partigen-Mengen dagegen vorübergehende beträchtliche Senkungen der Lipasewerte.

Da zur Auslösung von Tuberkulinwirkungen der tuberkulöse Infekt als Vorbedingung gegeben sein muß, so ist von besonderer Wichtigkeit das refraktäre Verhalten der Serumlipase bei tuberkulösen leichterkrankten Kindern mit unternormalen Lipasewerten. Nun ist das Wesen der Serumlipase in ihrer Bedeutung für die Spaltung der höheren Fette noch durchaus ungeklärt, weshalb der negative Ausfall der vorliegenden Versuche nicht als entscheidendes Kriterium gegen die Antigennatur der Fette gelten darf, da man eine Frage nicht mit Einführung einer neuen Unbekannten beantworten kann. Nur der positive Ausfall des Versuches hätte zur Stütze von Vermutungen dienen können. Immerhin geht aus diesen Versuchen hervor, daß man in der Beurteilung der Serumlipase bei tuberkulösen Erkrankungen vorsichtiger sein muß als dies von seiten mancher Autoren der Fall gewesen ist.

## Zusammenfassung.

Mit Fettpartigenen von Tuberkelbacillen, Hefeextrakten und Tebelon ließ sich keine Agglutininbildung im Sinne der Versuche Stubers erzielen. Die agglutinogene Wirkung der Bakterienfette Stubers wird vermutlich als eine der unspezifischen leistungssteigernden Reaktionen zu erklären sein.

Abnorme Gewichtssteigerungen, wie sie von Stuber nach Bakterienfetteinspritzungen gefunden wurden, konnten bei der Verwendung dieser nicht verseiften komplizierten Fettkörper nicht beobachtet werden.

Die unspezifische Serumlipase wurde durch Injektion dieser Fette, insbesondere der Deycke-Muchschen Partigene, bei gesunden Tieren und tuberkulösen Kindern nicht gesteigert.

---

## Literatur.

[1]) Stuber, diese Zeitschr. 77, 1916; Münch. med. Wochenschr. 1915, Nr. 35. — [2]) Borĉio, diese Zeitschr. 106, 1920.

# Kalkbindung durch tierische Gewebe. IV.

Von

E. Freudenberg und P. György.

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

*(Eingegangen am 1. Juni 1921.)*

Mit 15 Abbildungen im Text.

In unseren früheren Versuchen[1]) über das Problem der Kalkbindung bedienten wir uns vorzüglich chemisch-analytischer Methoden, indem wir die Ca-Bindung durch die Abnahme des Ca-Gehalts der mit den Gewebsstücken oder Eiweißkörpern (Gelatine) zusammengebrachten Lösung ausdrückten. Im Folgenden soll dagegen über Versuche berichtet werden, mittels rein physikalisch-chemischer Methodik die Frage der Ca-Bindung durch das Knorpelgewebe zu beleuchten. Zu diesem Zwecke verfolgten wir die Quellungsfähigkeit von Knorpelstücken unter verschiedenen Bedingungen, um so Anhaltspunkte für die Art der Bindung der Kationen, in erster Linie des Ca, und über den physikalisch-chemischen Zustand dieser Kation-Knorpelampholytverbindungen gewinnen zu können.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von Pauli[2]) ist zur Genüge bekannt, daß die Quellung von Eiweißkörpern eine Funktion ihrer Dissoziationsverhältnisse ist. Je besser eine Eiweißverbindung hydratisiert gequollen ist, desto größer auch die Dissoziationstendenz. Über den Zusammenhang des Quellungsvermögens mit dem isoelektrischen Punkt derselben Kolloide finden wir besonders in den Untersuchungen von Michaelis[3]) und in neuester Zeit bei Jacques Loeb[4]) sehr wichtige Feststellungen, die ebenfalls auf die Dissoziation dieser Ampholytverbindungen zurückzuführen sind.

---

1) Diese Zeitschr. 110, 299; 115, 96.

2) Vgl. Pauli, Kolloidchemie der Eiweißkörper, Dresden 1920.

3) Vgl. Michaelis, Die H-Ionenkonzentration. Springer, Berlin 1919.

4) Journ. of gen. Physiol. 1918, Nr. 1 u. 2; 1919, Nr. 3, 4, 5.

Das Quellungsvermögen des Knorpels war in der pädiatrischen Fachliteratur schon seit 1909 Gegenstand der Untersuchung.

Krosnogorski[1]) glaubte den Beweis erbracht zu haben, daß Ca-Mangel quellend und Ca-Ionen entquellend auf das Knorpelgewebe einwirken. Zu diesem Zwecke stellte er Versuche an, in denen die Quellung von frischen oder getrockneten Knorpelstücken in Lösungen von 0,25—1% NaCl mit solchen in Lösungen von 0,25—1%' $CaCl_2$ verglichen wurde. Tatsächlich blieben Knorpelstücke in den Kalksalzlösungen in ihrer Quellung gegenüber denjenigen in der Kochsalzlösung stark zurück. Hiermit bestätigte sich — erwartungsgemäß — auch am Knorpelgewebe die bekannte Hofmeistersche Reihe und die Hardegsche Wertigkeitsregel.

Wolff[2]), der die Untersuchungen von Krasnogorski mit Hilfe der gleichen Methodik und Technik nachkontrollierte, gelangte zu einem vollständig negativen Ergebnis: Seine Quellungskurven ließen eine entquellende Wirkung des Ca nicht erkennen. Auf Grund von Leitfähigkeitsbestimmungen der NaCl- und $CaCl_2$-Lösungen, in denen die Knorpelstücke aufgeschwemmt worden waren, lehnt er eine endosmotische Wasseraufnahme ab und glaubt die Quellung auf eine einfache Imbibition mit der Salzlösung zurückführen zu können. Unsere früheren Untersuchungen[3]), in denen wir die Ca-Aufnahme durch das Knorpelgewebe analytisch-chemisch nachgewiesen haben, entkräften diese Behauptung von Wolff vollständig. Wir sehen in der Quellung hauptsächlich einen Ausdruck der Hydratation der Knorpelkolloide, die wieder eine Folge ihres physikalisch-chemischen Zustandes darstellt. Worauf dagegen die Divergenz der experimentellen Beobachtungen beider Autoren in bezug auf die entquellende Wirkung des Ca-Ions beruht, ist nicht ohne weiteres verständlich. Sicherlich spielt der Umstand eine große Rolle, daß Wolff seine Versuche stets an frischem, also schon gequollenem Material ausgeführt hatte, während Krasnogorski — unseres Erachtens mit größerer technischer Zweckmäßigkeit — auch getrocknete Knorpelstücke in seine Untersuchungen einbezog.

Auf Grund unserer früheren Untersuchungen über die Bindungsfähigkeit des Ca-Ions durch das Knorpelgewebe müßte bei der Untersuchung über die Beeinflussung der Knorpelquellung durch das Ca-Ion eigentlich nicht der Ca-Gehalt der umgebenden Flüssigkeit, sondern der des Knorpels variiert werden. Wir erblicken — wie schon anfangs ausgeführt — nicht in den freien Ca-Ionen der Ca-haltigen Elektrolyte, sondern in den Ca-Knorpeleiweißverbindungen den Faktor, der den physikalisch-chemischen Zustand des Knorpels und so auch seine Hydratation zu ändern vermag. Während Krasnogorski und Wolff in ihren Ver-

[1]) Jahrb. f. Kinderheilk. 70, 693. 1909.
[2]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 5, 41. 1912.
[3]) l. c.

suchen den Ca-Gehalt des Milieus variiert haben, bedienten wir uns bei unseren Untersuchungen Knorpelproben, die wir durch eine vorhergehende Aufschwemmung in $^n/_6$ $CaCl_2$-Lösungen mit Ca-Ionen beluden. Als zweite Probe wählten wir mit-Mg-Ionen angereicherte Knorpelstücke, während zur Kontrolle nativer und mit physiologischer NaCl-Lösung vorbehandelter Knorpel verwendet wurde. Die Versuche führten wir an gleich großen, vorsichtig getrockneten Knorpelstücken (nicht über 40° C) dieser Proben, bei verschiedener H-Ionenkonzentration aus. Die Variierung des $p_H$ erzielten wir durch Acetat-, Phosphat- und Maleinatgemische. Wie bekannt, können die Acetatgemische den Bereich des Neutralpunktes nicht erreichen: um $p_H = 7{,}0$ herum werden im allgemeinen Phosphatgemische verwendet. Da aber Phosphate mit dem Ca-Ion, insbesondere in alkalischem oder neutralem Bereiche unter Bildung eines unlöslichen Niederschlags reagieren, könnte dieser Umstand bei unseren Quellungsversuchen störend sich bemerkbar machen, worauf wir weiter unten noch zurückkommen. Aus diesem Grunde wählten wir — nach dem Vorschlage von Michaelis[1]) — Gemische von primärem und sekundärerem Na-Maleinat, mit deren Hilfe wir einen ähnlichen $p_H$-Bereich herzustellen vermögen, wie durch Phosphatgemische. Dies ergibt sich schon aus dem Vergleich der zweiten Dissoziationskonstante beider Säuren:

Phosphorsäure $k_2 = 2{,}0 \cdot 10^{-7}$ Maleinsäure $k_2 = 2{,}6 \cdot 10^{-7}$

Die Messung der H-Ionenkonzentration erfolgte teils durch Gasketten, teils mit Hilfe der neuen Indikatorenmethode von Michaelis[2]).

Der Quellungsgrad wurde, wie dies seit den Hofmeisterschen Versuchen üblich ist, durch den Wassergehalt bezogen auf 1 g trockener quellender Substanz ausgedrückt. Wir hielten uns auch sonst an die Hofmeisterschen Vorschriften, die Wägungen führten wir auf der analytischen Wage zuerst alle 20 Minuten, später — nach Ablauf von 2 Stunden — alle 40 Minuten aus. Ein Quellungsversuch dauerte 5 Stunden, die Quellungskurve weist nach dieser Zeit keine bemerkbare Erhöhung auf.

Um unsere Versuchsergebnisse übersichtlich gestalten zu können, vergleichen wir die Quellungen nach den verschiedenen Puffergemischen geordnet.

---

[1]) Persönliche Mitteilung.

[2]) Michaelis und Gyemant, diese Zeitschr. 109, 165. 1920.

1. Acetatgemische. Im ganzen können wir über 5 Versuche berichten, bei $p_H = 6,55$; $5,80$; $4,55$; $3,6$ und $3,0$. Wie aus den mitgeteilten Kurven ersichtlich (Abb. 1—5) konnten wir in allen Versuchen die Hofmeistersche bzw. Hardysche Reihe bestätigen. Der native, Na-reiche (daher die Bezeichnung Na) Knorpel quillt bedeutend besser, als der Mg-reiche oder gar der Ca-angereicherte Knorpel. Ca und auch Mg wirken also entquellend. Hier glauben wir auch die Divergenz der experimentellen Ergebnisse von Krasnogorski und Wolff im Sinne von Krasnogorski endgültig entschieden zu haben. Besonders interessante Schlußfolgerungen erlaubt uns aber die Kurve (Abb. 6) in der wir auf die Abszisse den $p_H$ der Puffergemische, die wir bei unseren Quellungsversuchen mit Acetatpuffern anwendeten, auf die Ordinate die diesen $p_H$-Werten entsprechende maximale Quellung auftragen. Alle 3 Knorpelproben weisen ein sehr deutliches Quellungsminimum bei $p_H = 4,5$ auf, die Knorpeleiweißkörper sind also in der Nähe von $p_H = 4,5$ am geringsten dissoziiert, sie haben bei dieser H-Ionenkonzentration ihren isoelektrischen Punkt (I. P.). Wenn wir uns vergegenwärtigen, daß Gelatine einen I. P. von $p_H = 4,7$ aufweist, und außerdem unsere früheren

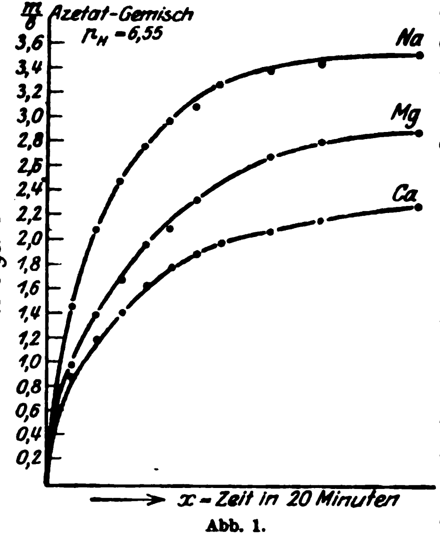



Abb. 1.

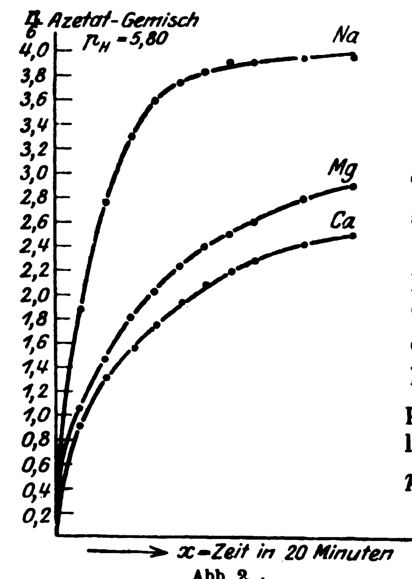



Abb. 2.

Untersuchungen auch in Bezug auf die Bindung von Ca bei ähnlichen $p_H$-Werten den I. P. vermuten ließen, so decken sich diese

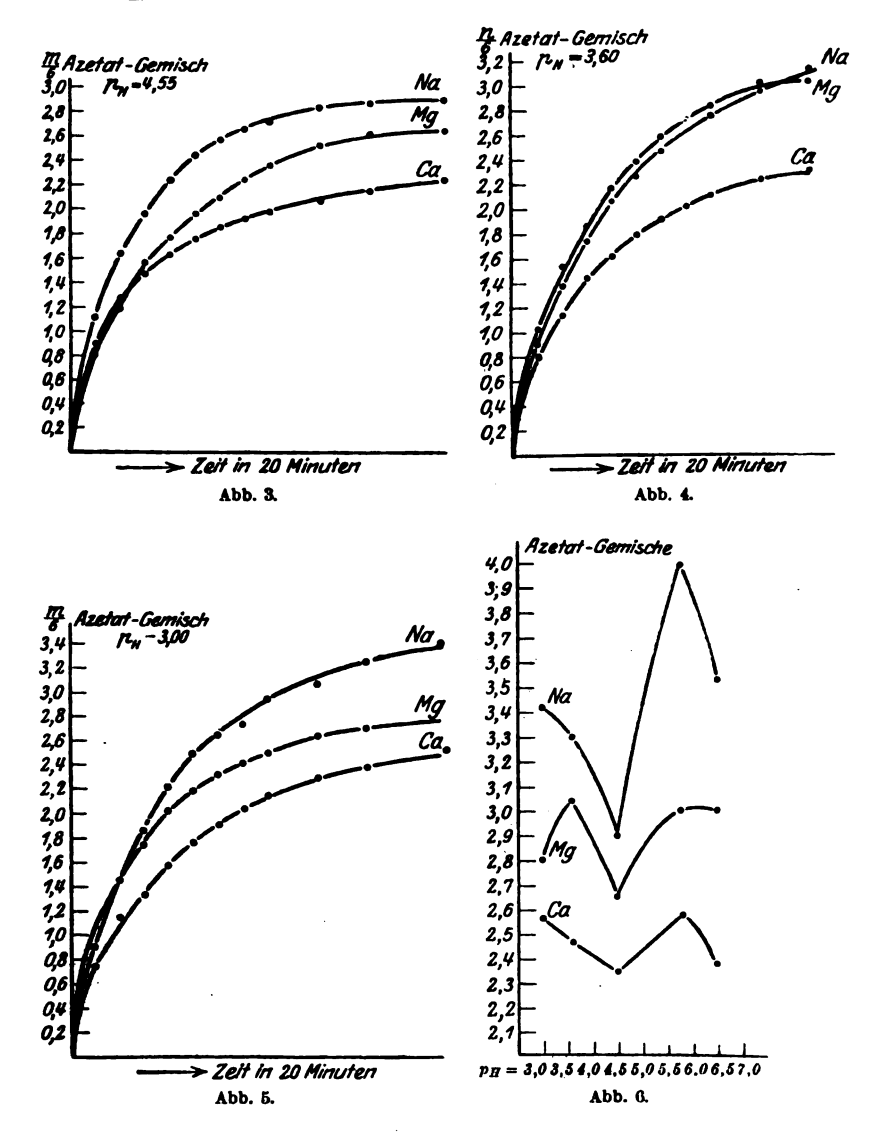



Abb. 3. Abb. 4.

Abb. 5. Abb. 6.

Tatsachen mit den Ergebnissen der angeführten Quellungsversuche vorzüglich. Die Kurven, insbesondere die des Na-reichen, nativen Knorpels entsprechen auch in ihrem sonstigen Verlauf

der Paulischen oder Loebschen Auffassung. Die beiderseits des I. P. steilen Zunahmen der Quellbarkeit entsprechen der zunehmenden Dissoziationsfähigkeit. Bei hohen H- oder OH'-Werten Zurückdrängen der Dissoziation, dementsprechend neuerliche Abnahme der Quellbarkeit mit abfallenden Schenkeln der Kurven. Eine wichtige Folgerung ergibt sich aus diesem Gedankengang bei den Mg-, besonders bei den Ca-Knorpelkurven. Während die Quellbarkeit des nativen, Na-reichen Knorpels von der H-Ionenkonzentration außerordentlich stark abhängt

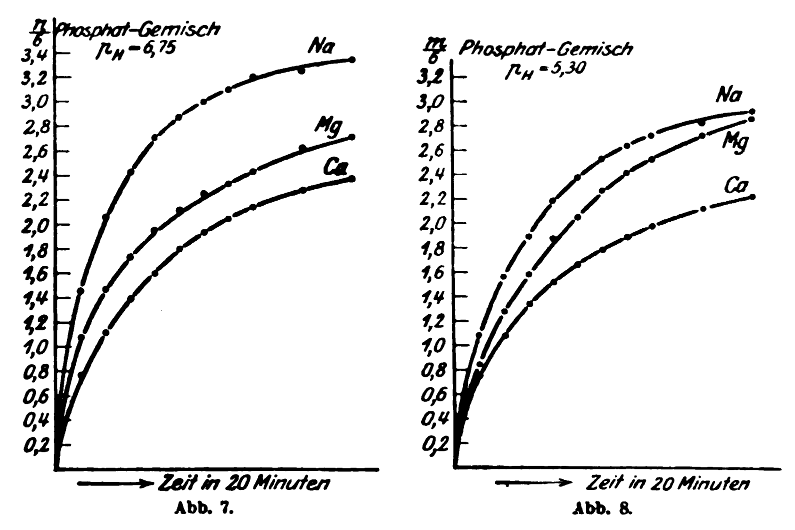



Abb. 7. Abb. 8.

und dementsprechend weite Quellungsgrenzen bei Änderung der H-Ionenkonzentration aufweist, sind die Kurven bei den mit Mg-, besonders aber bei den mit Ca beladenen Knorpelproben bedeutend flacher, das Quellungsvermögen derselben ist der H-Ionenkonzentration gegenüber weniger different, als es beim Na-reichen, nativen Knorpel der Fall ist. Eine gewisse Dissoziation muß aber auch bei diesen mit Mg und Ca-Ionen beladenen Knorpelproben angenommen werden, darauf weist schon das deutliche Quellungsminimum bei $p_H = 4,5$ hin. Wenn aber die zwischen den 3 untersuchten Knorpelproben festgestellten Unterschiede in der physikalischen Chemie der Proteinkörper ihre Lösung finden, so haben wir eigentlich die beste Stütze für unsere schon früher ausgesprochene Vermutung, daß das Ca-Ion (bzw. Mg-Ion) bei der elektiven Aufnahme aus einer Ca-Salz-(Mg-Salz)-Lösung

seitens des Knorpels an das Knorpeleiweiß fest gebunden wird und mit ihm eine salzähnliche Verbindung eingeht.

**Phosphatgemische.** Den Schlußstein zu dieser Beweisführung bilden unsere Quellungsversuche mit Phosphatgemischen. Schon in unserer letzten Mitteilung[1]) haben wir auf die Möglichkeit hingewiesen, daß der Ca-angereicherte Knorpel, bzw. das Ca-Knorpeleiweiß mit Phosphat-Ionen eine komplexe Verbindung bildet.

Diese unsere Vermutung konnten wir in unseren Quellungsversuchen mit Phosphatgemischen experimentell erweisen. Der Ca-beladene Knorpel müßte nach den Gesetzen der analytischen Chemie mit Phosphat-Ionen — wie schon oben erwähnt — ein unlösliches Ca-Phosphatsalz, also einen unlöslichen anorganischen Niederschlag bilden. An der Stelle des Ca müßte ein anderes Ion, im Falle von Na-Phosphatgemischen, Na treten und das Knorpeleiweiß ein Quellungsvermögen aufweisen, das hinter dem Na-reichen, nativen Knorpel nicht zurückbleibt. Vom unlöslichen Ca-Phosphatniederschlag können wir keinen Einfluß auf die Quellungsgröße des Knorpels erwarten. Die Quellungsversuche (Abb. 7—10) ergaben aber Kurven, welche die mit Acetatgemischen fast vollständig decken. Der Ca-arme, native Knorpel quillt bedeutend besser als der „Na-beladene" Knorpel,

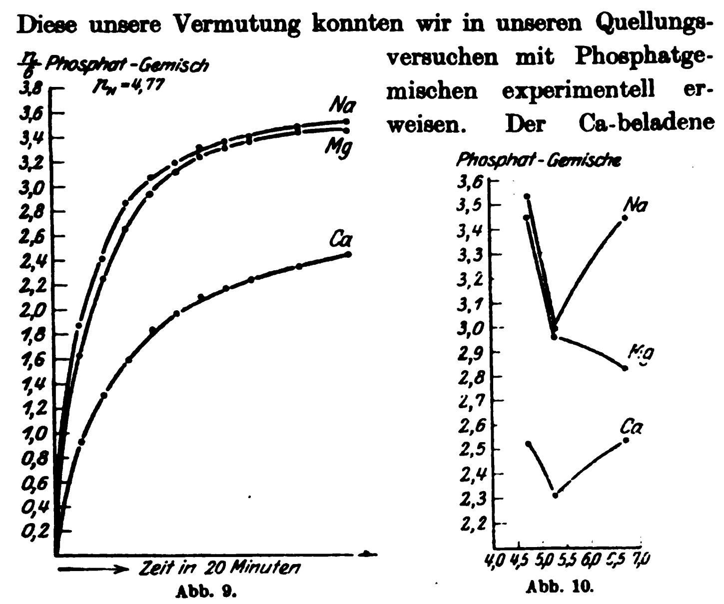



Abb. 9.

Abb. 10.

[1]) Diese Zeitschr. 118, 1921.

während der Mg-Knorpel wieder eine Mittelstellung einnimmt. Wenn wir uns daran erinnern[1]), daß wir die Bindung der Phosphate auch an Mg-Knorpel, selbst bei einem $p_H$, demeine Fällung von Mg-Phosphat noch nicht entspricht, analytisch nachweisen konnten, so werden uns die Resultate der Quellungsversuche auch in diesem Punkte klar und führen uns fast zwangsmäßig zu der Annahme der komplexen Ca- (bzw. Mg-)Phosphat-Eiweißverbindung, die wir uns in Analogie mit Siegfrieds Karbaminoreaktion vorstellen. Wie sich diese Tatsache mit der Theorie von J. Loeb vereinbaren läßt, müssen weitere Modellversuche ergeben.

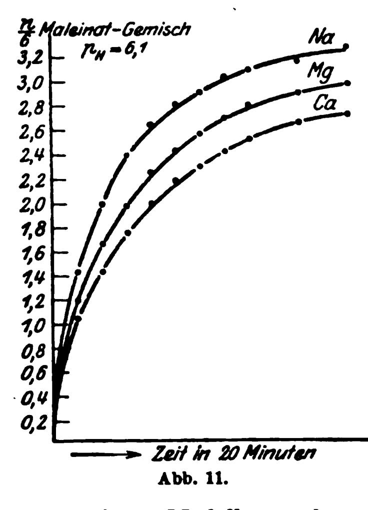



Abb. 11.

Außer diesem Punkte weisen die Quellungskurven mit Phosphatgemischen weitere interessante Besonderheiten auf. Das Quellungsminimum, das wir bei Acetatgemischen bei $p_H = 4,5$ gefunden haben, zeigt eine Verschiebung gegen die alkalische Seite hin und liegt bei allen Knorpelproben im Bereiche von $p_H = 5,3$. Wir glauben diese Verschiebung auch der Richtung nach mit den Beobachtungen von Michaelis und v. Szent-Györgyi[1]), sowie mit den theoretischen Ausführungen von Michaelis[2]) vollständig in Einklang bringen zu können.

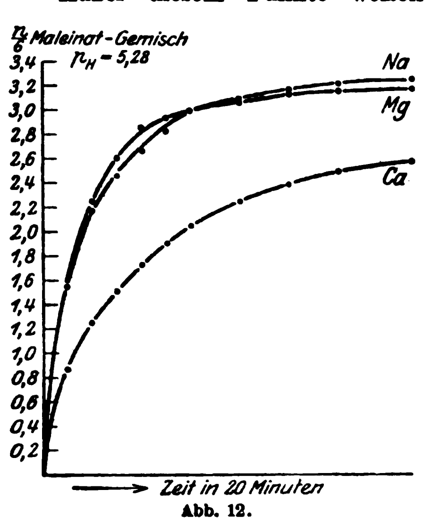



Abb. 12.

Wie bei den Acetatgemischen, so ist auch im Falle von

[1]) Diese Zeitschr. 103, 178. 1920.

[2]) Diese Zeitschr. 103, 225. 1920; 106, 83. 1920.

Phosphatgemischen der Ca-bereicherte Knorpel der Änderung der H-Ionenkonzentration gegenüber bedeutend weniger empfindlich als der Na-reiche, native Knorpel, wieder ein Hinweis auf die schlechten Dissoziationsverhältnisse der Ca-Eiweißsalze. Der Mg-Knorpel nimmt nur im alkalischen Bereiche eine Mittelstelle zwischen dem nativen und dem Ca-angereicherten Knorpel ein, während er im sauren Bereiche ein dem nativen Na-reichen Knorpel vollständig analoges Verhalten aufweist. Wir glauben diese Tatsache auf die Entbindung des Mg im sauren Bereiche zurückführen zu können, während dieselbe im Falle des Ca-Knorpels noch nicht in Erscheinung tritt. Vielleicht spielen hier auch Vorgänge im Sinne einer starken oder geringen Verschiebung des Quellungsoptimums eine Rolle.

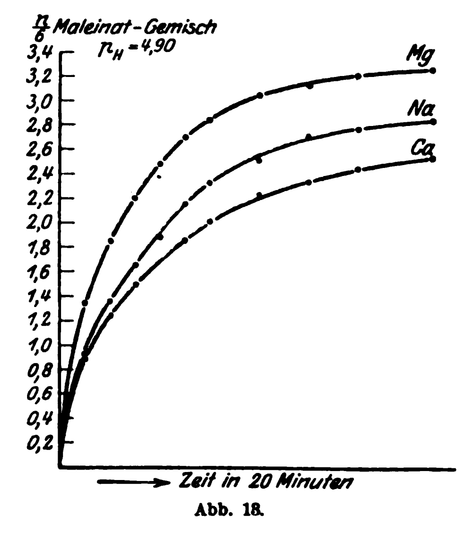


Abb. 13.

Maleinatgemische. Die Versuche bestätigen die Ergebnisse der Acetat- und Phosphatgemische. Starke Quellbarkeit des nativen Knorpels, geringes Quellungsvermögen des Ca-beladenen Knorpels, während Mg-Knorpel wieder eine Mittelstellung einnimmt (Abb. 11—14). Das Quellungsminimum liegt, ähnlich dem Acetatgemisch, bei $p_H = 4,9$, es ist beim nativen und Ca-armen Knorpel sehr deutlich, wird aber beim Mg-Knorpel vermißt. Ob hier eine gewisse Verschiebung desselben gegen die saure Seite vorliegt, konnten wir nicht ermitteln, da wir mit Hilfe von Maleinatgemischen höhere H-Ionenkonzentrationen als $p_H = 4,9$ nicht erreichen konnten. Die starke Abhängigkeit des Quellungsvermögens von der H-Ionenkonzentration beim nativen Knorpel, den weniger deutlichen Einfluß desselben bei den Mg- und Ca-Knorpelproben

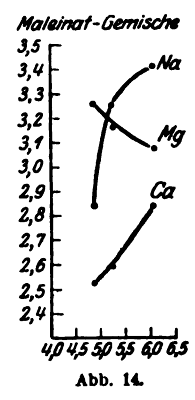


Abb. 14.

sehen wir auch bei Verwendung von Maleinatgemischen. Die Zahl der Versuche ist zu spärlich, um den Ablauf der Quellungsvorgänge in einem großen $p_H$-Bereich verfolgen zu können.

Zum Schluß noch ein Versuch mit einer Probe von getrocknetem Spongiosa-Röhrenknochen eines 6 Monate alten Hundes. Als Puffer wählten wir Acetatgemische. Die Quellung bezogen wir auf 1 g organische Substanz, indem wir nach Bestimmung des Aschegehaltes die Menge derselben berechneten. Die Quellungskurve (Abb. 15) entspricht im Charakter der eines Ca-angereicherten Knorpels, sie bleibt aber hinter ihr noch weiter zurück.

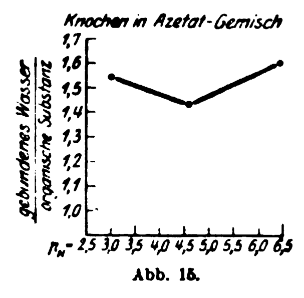


Abb. 15.

Besonders wichtig und im Sinne des erwähnten Parallelismus spricht die Tatsache, daß der Knochen in seiner Quellbarkeit von der Änderung der H-Ionenkonzentration in weiten Grenzen unabhängig ist; ein Minimum war aber doch, und zwar ebenfalls bei $p_H = 4,7$ deutlich wahrzunehmen. Wieder ein Hinweis auf das Vorliegen komplexer Ca-Eiweißverbindungen, im fertigen Knochen ebenso wie im künstlich beladenen Knorpel.

## Zusammenfassung.

1. Der native, Na-reiche Knorpel quillt besser, als der künstlich mit Ca-Ionen angereicherte Knorpel, während der Mg-angereicherte Knorpel eine Mittelstellung einnimmt.

2. Alle 3 Knorpelproben weisen im Bereich von $p_H = 4,7$ ein deutliches Quellungsminimum auf, dasselbe wird mit dem isoelektrischen Punkt der Knorpeleiweißkörper in Zusammenhang gebracht. Im Gegensatz zum nativen Knorpel ist der mit Ca (bzw. Mg) angereicherte Knorpel gegenüber der Änderung der H-Ionenkonzentration in seinem Quellungsvermögen in weiten Grenzen unabhängig.

3. Die Quellungsverhältnisse des Ca-(Mg-)angereicherten Knorpels werden aus der schlechten Dissoziationsfähigkeit der Ca-(Mg-)Knorpel-Eiweißverbindung abgeleitet.

4. Knorpelproben in Phosphatgemischen zeigen genau dieselben Gesetzmäßigkeiten in bezug auf ihr Quellungsvermögen wie in Acetat- oder Maleinatgemischen. Diese Tatsache findet im Auftreten einer komplexen Kation-Phosphat-Eiweißverbindung ihre ausreichende Erklärung.

5. Getrockneter Knochen besitzt ein gewisses, wenn auch geringes Quellungsvermögen, vom Charakter des künstlich Ca-angereicherten Knorpels.

---

# Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. V.

Von

**E. Freudenberg** und **P. György.**

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

*(Eingegangen am 1. Juni 1921.)*

Die Übertragung unserer bisherigen Versuchsergebnisse über Kalkbindung auf die Vorgänge im lebenden Organismus hat die Klärung von zahlreichen Vorfragen zur Voraussetzung. Man muß das Verhalten des Knorpels gegenüber den physiologisch vorkommenden Kalkkonzentrationen kennen, sein Kalkbindungsvermögen bei geringen Reaktionsveränderungen seines Mediums beurteilen können, die Einwirkung der Ionen und Nichtelektrolyte, wie sie in der Gewebsflüssigkeit vorkommen, in Rücksicht ziehen. Daß der Stoffwechsel, der Entwicklungszustand des kalkbindenden Gewebes Einfluß auf den Vorgang haben wird, muß die Untersuchung desselben so komplizieren, daß es schlechtweg unmöglich wird, die natürlichen Verhältnisse in Modellversuchen naturgetreu nachzuahmen. Solche Versuche können nur gewisse Seiten des verwickelten Geschehens beleuchten, dadurch aber unter Umständen wenigstens die Richtlinien desselben anschaulich machen.

## 1. Die Kalkbindung bei niedrigen Ca-Konzentrationen.

Wir hatten bereits früher mitgeteilt[1]), daß die Bindung von Ca-Ionen an Knorpel mit abnehmender Ca-Konzentration kleiner wird. Eine planmäßige Untersuchung des Grenzbereichs war nicht erfolgt. Zu ihrer Durchführung verwendeten wir ein genaueres Maßsystem, indem wir uns statt der Säuretitration der Jodometrie bedienten und Lösungen von 0,01 Normalität gebrauchten. Statt des Einlegens der Knorpelmasse in die zu

---

[1]) Diese Zeitschr. **110**. 1920.

untersuchende Flüssigkeit, das den Nachteil hat, daß Produkte kolloider Beschaffenheit in der Flüssigkeit auftreten und die Bindung an die feste Phase beeinflussen, benutzten wir eine andere Versuchsanordnung. Diese war der Kompensationsdialyse nachgebildet und bestand darin, daß eine gewogene Menge (meist 2,5 g) getrockneten, gemahlenen Kalbsknorpels in Dialysehülsen mit einer den Bedarf an Quellungsflüssigkeit überschießenden Menge Ringerlösung (meist 20 g) übergossen wurde, während die Hülse in eine kleinere Menge (meist 15 g) der gleichen Lösung tauchte. Bindet der Knorpel in der Hülse Ca-Ionen, so strömen diese von außen nach innen nach, was sich in einer Abnahme des Ca-Gehaltes der Außenflüssigkeit analytisch nachweisen läßt. Diese Abnahme dient als Maß der Kalkbindung. Bei diesem Vorgehen wird zugleich die Veraschung vermieden. Die Wahl des Maßes ist willkürlich, da die Größe des Ausschlags von der Menge der verwendeten Flüssigkeit abhängt.

Versuch 1: Je 5 g Kalbstrockenknorpel in 40 ccm Ringerlösung (ohne Bicarbonatzusatz) gegen 50 ccm der gleichen Ringerlösung 2 Tage dialysiert. Die Ca-Konzentration wie angegeben. Toluolzusatz.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| Normalität an Ca vor der Dialyse | 0,0056 | 0,0056 | 0,0112 |
| „ „ „ nach „ „ | 0,0066 | 0,0066 | 0,0102 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 0 | 0 | 8,9 |

Versuch 2: Anordnung wie 1. Verwendet 2,5 g Knorpel, innen 10, außen 20 ccm Ringerlösung. Toluolzusatz.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0056 | 0,0091 | 0,0092 |
| nach der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0056 | 0,0079 | 0,0078 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 0 | 13,2 | 15,2 |

Versuch 3: Wie 2. Verwendet je 2,5 g Trockenknorpel, innen 20, außen 15 ccm Ringerlösung. Toluolzusatz.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . . . . | 0,0057 | 0,0076 | 0,0094 |
| nach der Dialyse . . . . . . . . . | 0,0068 | 0,0069 | 0,0091 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 0 | 9,2 | 3,1 |

Versuch 4: Anordnung und Mengen wie 3. Toluolzusatz.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. |
|---|---|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . | 0,0033 | 0,0077 | 0,0094 | 0,0141 | 0,0161 |
| nach der Dialyse . . . . . | 0,0038 | 0,0077 | 0,0092 | 0,0111 | 0,0144 |
| Ca-Bindung in Prozenten . | 0 | 0 | 2,0 | 21,3 | 10,5 |

Versuch 5: Anordnung und Mengen wie 3. Toluolzusatz.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. | 4. | 5. |
|---|---|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . | 0,0033 | 0,0077 | 0,0094 | 0,0141 | 0,0161 |
| nach der Dialyse . . . . . | 0,0043 | 0,0058 | 0,0081 | 0,0118 | 0,0134 |
| Ca-Bindung in Prozenten . | 0 | 24,7 | 13,8 | 16,3 | 16,2 |

Versuch 6: Anordnung und Mengen wie 3. Toluolzusatz unterlassen.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0053 | 0,0090 | 0,0113 |
| nach der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0067 | 0,0092 | 0,0117 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ der Außenflüssigkeit gemessen . | 6,87 | 6,75 | 6,65 |

Versuch 7: Anordnung und Mengen wie 3. Toluolzusatz unterlassen.

| Ca-Gehalt der Außenflüssigkeit: | 1. | 2. | 3. |
|---|---|---|---|
| vor der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0053 | 0,0090 | 0,0113 |
| nach der Dialyse . . . . . . . . . . | 0,0068 | 0,0122 | 0,0121 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 0 | 0 | 0 |
| $p_H$ der Außenflüssigkeit gemessen . | 6,84 | 6,97 | 7,11 |

Das Ergebnis der angeführten 7 Versuche ist, daß die Kalkbindung durch Knorpel bei unsrer Versuchsanordnung unterhalb der Konzentration von etwa 0,01 Normalität (20 mg-% Ca) nicht mehr stattfindet. Im Gegenteil diffundiert bei wesentlich niedrigerer Ca-Konzentration Kalk aus der Hülse nach außen. Von 0,006 bis 0,009 Normalität besteht Gleichgewicht der Ca-Spannungen. Die Versuche 6 und 7, in welchen oberhalb 0,01 Normalität keine Kalkbindung erfolgt, unterscheiden sich von den übrigen durch den Mangel des Desinfektionsmittels, wodurch es zu leichter Fäulnis gekommen war. Die Gründe, aus denen in diesem Falle die Bedingungen der Kalkbindung verschlechtert werden müssen, werden weiter unten ersichtlich werden.

Der Umstand, daß oberhalb eines bestimmten Grenzwertes (etwa 20 mg-%) die Kalkbindung in unsren Versuchen nachweislich wird[1]) und daß in einer Zone unterhalb desselben Gleichgewicht in der Kalkverteilung herrscht, ist nun selbstverständlich nicht so zu interpretieren, daß wir den Wert von 20 mg-% Ca als die Grenzschwelle der Ca-Bindung im lebenden Organismus betrachteten. Die eingangs erörterten Gründe zeigen, daß wir nicht erwarten dürfen, den Vorgang in vitro unter den gleichen Bedin-

[1]) Wir berücksichtigen nur Werte über 10% als sichere „Bindung".

gungen wie im Körper verfolgen zu können. Um nur eine dieser Bedingungen zu prüfen, untersuchten wir in 3 Vergleichsreihen die Einwirkung von physiologisch möglichen $p_H$ = Verschiebungen auf die Kalkbindung im Bereich niedriger Ca-Spannungen. Wir setzten Bicarbonat bis zu 0,02% den Ringerlösungen zu, $p_H$ wurde am Ende der Dialyse in der Außenflüssigkeit gemessen. Die Werte variierten im Bereich von 7,42 bis 7,68 (6 Einzelversuche), während die bicarbonatfreien Ringerlösungen am Ende der Versuche ein $p_H$ von 6,65 bis 7,10 aufwiesen (8 Einzelversuche). Irgendein Einfluß auf die Ca-Bindung wurde durch eine solche kleine Verschiebung der Reaktion nicht bewirkt.

Von größerem Einfluß erwiesen sich Eingriffe in die physikalisch-chemische Konstitution des Knorpels.

## 2. Die Kalkbindung durch fermentativ veränderten Knorpel.

Versuch 8: Kalbsknorpel wurde der Einwirkung von Rhenania-Pankreatin bei Brutschranktemperatur in Gegenwart von Toluol als Antisepticum 4 Tage unterworfen, dann wiederholt mit destilliertem Wasser gespült und getrocknet. Die Verdauung wurde in einem Maleinatgemisch bei $p_H$ 8,0 vorgenommen. Je 1 g des so behandelten Trockenknorpels und des unveränderten getrockneten Kalbsknorpels werden 2 Tage in 25 ccm eines Acetatgemisches von $p_H$ 6,7 eingelegt, dem ein bestimmter Ca-Gehalt gegeben worden war.

| | Tryptisch behandelter Knorpel | Gewöhnlicher Knorpel |
|---|---|---|
| Lösung vor dem Einlegen . . . . | 0,0302 Norm. | 0,0302 Norm. |
| Lösung nach 2 Tagen . . . . . . | 0,0224 „ | 0,0124 „ |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . | 25,8 | 58,9 |
| 1 g Trockenknorpel enthält: | | |
| vor dem Einlegen . . . . . . . | 0,84 mg Ca | 0,80 mg Ca |
| nach 2 Tagen . . . . . . . . . | 2,82 „ „ | 4,18 „ „ |

Versuch 9: Je 3 g wie oben gewonnenen „Trypsinknorpels" und 3 g gewöhnlichen Trockenknorpels werden in 30 ccm einer analysierten Ca-Lösung eingelegt. Die Lösung wird nach 2 Tagen untersucht.

| | Tryptisch behandelter Knorpel | | Gewöhnlicher Knorpel | |
|---|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor dem Einlegen | 0,0280 | 0,0280 | 0,0280 | 0,0280 |
| „ nach 2 Tagen . . | 0,0208 | 0,0204 | 0,0114 | 0,0110 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . | 25,7 | 27,1 | 59,3 | 60,7 |

Versuch 10: Die tryptische Behandlung bei 37° wird über 7 Tage ausgedehnt. In einer Probe wird das Gemisch vor dem Zusatz des Knorpels aufgekocht. Ansatz wie in Versuch 9.

| | | Tryptisch behandelt | | Mit gekochter Trypsinlösung behandelt | Gewöhnlicher Knorpel |
|---|---|---|---|---|---|
| Ca-Normalität | v. d. Einl. | 0,0580 | 0,0580 | 0,0580 | 0,0580 |
| „ | n. 2 Tagen | 0,0590 | 0,0600 | 0,0550 | 0,0430 |
| Ca-Bindung in Proz. | | 0 | 0 | 5,1 | 25,9 |

Versuch 11: 3 g Knorpel mit 0,5 g Pankreatin und 30 ccm $CaCl_2$-Lösung in Acetatgemisch von $p_H$ 6,7 24 Stunden bei 37° digeriert. Toluolzusatz.

Eine gleiche Probe wird gekocht und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Endlich 3 g Kalbstrockenknorpel mit der obigen Kalklösung 24 Stunden in Kontakt gelassen.

| | | Tryptisch behandelt | | Mit gekochter Trypsinlösung behandelt | Gewöhnlicher Knorpel |
|---|---|---|---|---|---|
| Ca-Normalität | vorher. . | 0,0302 | 0,0302 | 0,0302 | 0,0302 |
| „ | n. 24 Stdn. | 0,0234 | 0,0224 | 0,0180 | 0,0148 |
| Ca-Bindung in Proz. . | | 22,5 | 25,8 | 40,4 | 50,9 |

Die hier mitgeteilten Versuche zeigen, daß Trypsinbehandlung den Knorpel seines Vermögens, Ca zu binden, beraubt. Bei genügender Fermenteinwirkung tritt völliger Verlust der kalkbindenden Funktion des Gewebes ein. Die geringe Bindung bei dem mit gekochtem Trypsin behandelten Knorpel in Versuch 10 findet darin ihre Aufklärung, daß bei der 7tägigen Verweildauer bei 37° die autolytischen Gewebsfermente zur Wirkung kamen. Daß diese bei den hier gebrauchten Versuchsanordnungen zur Wirkung kommen müssen, dafür gibt es eine Reihe von Anhaltspunkten.

1. Schon Pfaundler hat gefunden[1]), daß kurzes Abkochen des Knorpels die Bindung des Kalks nicht hemmt, sondern daß dann im Gegenteil bessere Ausschläge erhalten werden.

2. Dehnt man die Versuchszeiten beim Einlegen von Knorpel in Kalklösungen statt über 1—3 Tage über eine Woche oder länger aus, so erhält man viel geringere Ca-Bindung als bei kurzer Versuchszeit.

3. Bei Brutschranktemperatur bleiben die Werte ebenfalls kleiner als bei Zimmertemperatur.

Wir stehen nicht an, diese Beobachtungen dahin auszulegen, daß die autolytischen Gewebsfermente die gleiche Veränderung am Knorpel bewirken wie Trypsin, und daß diese Veränderung

[1]) Jahrb. f. Kinderheilk. 60. 1904.

die Fähigkeit zur Kalkbindung herabsetzt[1]). Unser Trocknungsverfahren war so schonend, daß eine Zerstörung der Fermente nicht zu befürchten war.

Es erhebt sich die Frage, wie die Trypsinwirkung zu erklären ist. Da wir bei der Untersuchung der Kalkbindung von der Grundvorstellung ausgegangen waren, daß der Charakter der Gewebskolloide als Ampholyte die Ca-Bindung an das Gewebe hervorruft, so lag es nahe, anzunehmen, daß die bei der Fermentwirkung entstehenden kolloiden und halbkolloiden Abbauprodukte, die großenteils Ampholyte sein dürften, die Ca-Ionen in der Lösung binden, so daß sie der Bindung an die feste Phase entzogen werden. Diese vorläufige Annahme wurde der Anlaß, eine Reihe von Eiweißderivaten auf ihre Wirkung auf die Kalkbindung durch Knorpel zu untersuchen. Hierüber wird später berichtet werden. Es zeigte sich, daß die soeben entwickelte Anschauung zur Klärung der Erscheinungen nicht ausreicht. Es ergab sich auch durch einfachste, N-haltige Substanzen, die nicht Elektrolyte sein müssen, Hemmung der Kalkbindung an Knorpel.

### 3. Die Einwirkung von Harnstoff und Ammonchlorid auf die Kalkbindung.

Es wurde das im ersten Abschnitt dieser Arbeit beschriebene Dialysierverfahren gebraucht.

Versuch 12: Anordnung und Mengen wie in Versuch 3. Die Ringerlösungen enthalten 1% Harnstoff.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0077 | 0,0094 | 0,0141 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0083 | 0,0112 | 0,0139 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 0 | 0 | 1,4 |

Versuch 13: Wie 3. Ringerlösungen enthalten 1% Harnstoff.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0077 | 0,0094 | 0,0141 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0083 | 0,0095 | 0,0160 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 0 | 0 | 0 |

Versuch 14: Wie 12. Ringerlösungen enthalten 1% Harnstoff.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0090 | 0,0115 | 0,0170 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0091 | 0,0110 | 0,0174 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 0 | 4,3 | 0 |

Versuch 15: Anordnung wie 3. Ringerlösungen enthalten 0,5% $NH_4Cl$.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0077 | 0,0094 | 0,0141 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0085 | 0,0108 | 0,0140 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 0 | 0 | 0 |

[1]) In den Versuchen 6 und 7 dürfte die Kalkbindung durch bakterielle Abbauprodukte herabgesetzt sein.

Versuch 16: Anordnung wie 3. Ringerlösungen mit 0,5% $NH_4Cl$.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0099 | 0,0149 | 0,0158 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0117 | 0,0161 | 0,0166 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 0 | 0 | 0 |

Versuch 17: Anordnung wie 3. Ohne Zusatz von $NH_4Cl$ oder $\overset{+}{U}$.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Ca-Normalität vor der Dialyse . . . | 0,0099 | 0,0149 | 0,0158 |
| „ nach der Dialyse . . . | 0,0093 | 0,0126 | 0,0126 |
| Ca-Bindung in Prozenten . . . . . | 3,0 | 15,4 | 20,2 |

Die Versuche ergeben eine ausgesprochene Hemmung der Kalkbindung durch Harnstoff und Ammonchlorid.

### 4. Erörterung der Ergebnisse.

Die Feststellung, daß bei etwa 20 mg-% Ca unter der gewählten Versuchsanordnung Ca-Bindung an den Knorpel sicher nachweisbar wird, kann — wie oben ausgeführt — nicht bedeuten, daß dies der Schwellenwert der Kalkbindung im Organismus ist. Zunächst hängt rein versuchstechnisch dieser Wert in unseren Versuchen von den Flüssigkeitsmengen mit ab. Wahrscheinlich sind weiter unsre Versuchsbedingungen zum Nachweise des Vorgangs ungünstiger als im Körper. Autolytische Vorgänge, die, wie ausgeführt, störend wirken, spielen sich stets in unseren Versuchen ab, die ständige Durchströmung mit einer an Ca gleich konzentrierten Lösung findet nicht statt, sondern die Kalkspannung sinkt während des Versuchs usw. Demnach ist es nicht auffällig, daß wir den Wert der Blutkalkspannung nicht erreichen. Es ist zu erwarten, daß geringe, vorübergehende Erhöhungen derselben die Bedingungen der Kalkbindung verbessern werden. Da wir nun früher gezeigt hatten, daß die Kalkbindung auf einer Verdrängung von Alkali-Ionen aus Alkalikolloidkomplexen beruht und da solche bei der Reaktion der Gewebe im Organismus überall vorliegen müssen, so erhebt sich die Frage, warum nicht alle Gewebe verkalken, warum der Verkalkungsprozeß sich auf die Wachstumszonen im Knochen beschränkt und nach Abschluß des Wachstums praktisch aufhört. Tatsächlich nahmen bei unsrer Versuchsanordnung nicht nur Knorpel und entkalktes Knochengewebe Ca auf, sondern auch Gehirnmasse, Niere, Drüsen, sogar in geringem Maße die Muskeln[1]).

[1]) Sobald ein Gewebe Ca-Ionen binden kann, wird es bei der Verbreitung der Phosphate im Organismus auch allen denjenigen Vorgängen unterliegen können, die wir in Mitteilung III (diese Zeitschr. 118. 1921) beschrieben haben.

Von irgendeiner Spezifität ist nicht die Rede, wie dies ja auch mehr der theoretischen Ableitung des Vorgangs vom Verhalten amphoterer Kolloide entspricht. Hiernach würde sich die früher übliche Betrachtungsweise der Verkalkungsvorgänge prinzipiell ändern. An sich sind überall die Bedingungen zur Verkalkung im Organismus gegeben.

Die Fragestellung lautet nicht mehr: Wie kann es zur Verkalkung kommen, sondern sie lautet: Warum verkalken die Gewebe nicht unter normalen Verhältnissen?

Diese Auffassung ist nur haltbar, wenn gezeigt werden kann, daß es im Organismus Hemmungsmechanismen gegen die Verkalkung gibt. Produkte, die gegen die Verkalkung schützen, entstehen beim tryptischen und autolytischen Gewebsabbau. Ja sogar Harnstoff und Ammonsalze hemmen den Verkalkungsvorgang. Wir werden planmäßig nach weiteren Stoffen mit gleicher Wirkung suchen. Mehrere haben wir schon aufgefunden. Da anzunehmen ist, daß die gleichen oder den untersuchten ähnliche Produkte beim Eiweißabbau im Stoffwechsel entstehen, ist der Stoffwechsel als Gegenmechanismus gegen die Verkalkung anzusehen.

## Zusammenfassung.

1. Knorpel vermag von einer Konzentration von 0,01 Normalität Ca an bei einem Verhältnis von 1 Teil Trockensubstanz zu etwa 10 Lösungsmittel Ca zu binden. Bei niederer Konzentration besteht zunächst Gleichgewicht der Ca-Verteilung zwischen Knorpel und Lösung, bei noch tieferer gibt der Knorpel Ca an die Lösung ab.

2. Tryptischer Abbau und autolytische Prozesse im Knorpelgewebe, sowie Harnstoff und Ammonchlorid hemmen die Kalkbindung.

3. Es wird die Anschauung entwickelt, daß im Organismus überall normaliter die Bedingungen zur Verkalkung gegeben sind, und sich der Organismus durch gewisse Hemmungsmechanismen (Stoffwechselprodukte) vor der Verkalkung schützt. Bei deren Wegfall muß sie sofort eintreten.

# Über die Einwirkung von Salzen auf die Entfärbung des Methylenblaus durch verschiedene Hefesorten.

Von

H. Kumagawa (Tokio).

*(Eingegangen am 20. Mai 1921.)*

Die alkoholische Gärung stellt einen in sich ausgeglichenen Vorgang insofern dar, als die intermediären oxydativen und reduktiven Teilprozesse in den Endprodukten nicht zum Ausdruck kommen. Die Auseinanderziehung der sich abspielenden Einzelleistungen ist mit verschiedenen Methoden erst in den letzten Jahren C. Neuberg und Mitarbeitern gelungen[1]). Indem sie Mittel fanden, eine Oxydationsstufe, den Acetaldehyd, festzulegen, verhinderten sie die normalerweise obwaltende Korrelation von Oxydations- und Reduktionstätigkeit. An Stelle des Äthylalkohols, der für gewöhnlich durch Reduktion des Durchgangsgliedes Acetaldehyd gebildet wird, tritt dabei ein neues Reduktionsprodukt auf, das Glycerin. Dabei ist es gleichgültig, auf welche Weise die Eliminierung des Acetaldehyds geschieht; sie kann durch Bindung des Acetaldehyds an geeignete Abfangmittel oder durch seine Kondensation mit einem Zusatzstoff oder durch Dismutation (Umlagerung) erfolgen.

Wie man sieht, sind bei der gewöhnlichen Zuckerspaltung wie den abgeänderten Gärungsformen stets Oxydation und Reduktion miteinander verknüpft. Für das Zustandekommen der reduktiven Leistung haben russische Forscher ein besonderes Ferment angenommen, die Reduktase. Sie gründen ihre Ansichten namentlich auf das Verhalten des Methylenblaus, indem dieser Farbstoff von Hefen reduziert werden kann. Wenn es wirklich möglich wäre, durch Zugabe des so überaus leicht desoxydierbaren Methylenblaus die hydrierende Phase des Gärungsvorganges abzulenken,

[1]) C. Neuberg und Mitarbeiter, diese Zeitschr. 1911—1921.

so müßte es gelingen, ein Oxydationsprodukt anzuhäufen. Darauf gerichtete Untersuchungen von Lwoff[1]) und Stange[2]) haben jedoch einen solchen Einfluß nicht erkennen lassen. Lwoff bezog das Eingreifen des Methylenblaus auf eine Reaktion des Farbstoffs mit Aminosäuren, die das Hefenmaterial abgibt. Der eigentliche Gärungsquotient ($C_2H_5OH : CO_2 = 1 : 1$) änderte sich in Gegenwart von Methylenblau nicht oder praktisch nicht. Dieses Verhalten deutet darauf hin, daß die Methylenblaureduktion nicht zwangsläufig am Gärungsvorgang zu haften braucht, und in der Tat bieten die älteren sowie die neueren Ergebnisse von Thunberg[3]) und die von Haase[4]) aus Heubners Institut über den Mechanismus der Methylenblaureduktion durch biologische Objekte die Möglichkeiten für ganz andere Erklärungen. Im Gegensatz hierzu scheinen noch neuerdings S. Kostytschew und S. Subkowa[5]) anzunehmen, daß die beim Methylenblau eintretende und von ihnen als Reduktasewirkung aufgefaßte Verküpung des Farbstoffes mit dem Komplex der zymatischen Fermente zusammenhänge; sie wollen nämlich die von ihnen angegebene etwas verstärkte Bildung von Acetaldehyd unter dem Einfluß von Zink- und Cadmiumsalzen auf eine Schädigung der Reduktase beziehen, die dadurch außerstand gesetzt werden soll, die normale Reduktion des Acetaldehyds zu Äthylalkohol herbeizuführen. Ich möchte nicht auf den Umstand eingehen, daß die auf Zink- und Cadmiumwirkung bezogene, von den russischen Forschern gefundene Aldehydmenge äußerst geringfügig ist (sie beträgt bei Zinksalzen und lebender Hefe 0,0057% und mit trockener Hefe 0,152% der zugefügten Hexosen und bei Cadmiumsalz 0,38% ad maximum), sondern darauf hinweisen, daß früher schon Neuberg und Kerb[6]) sowie Buchner, Langheld und Skraup[7]) diese Wirkung der Zinksalze überhaupt nicht hatten bestätigen können oder auf andere Weise erklären mußten, eine Divergenz, die Kostytschew (l. c.) neuerdings darauf zurückführt, daß „ver-

[1]) S. Lwoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 3, 305. 1913.

[2]) H. Stange, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 5, 131 u. 149. 1915.

[3]) T. Thunberg, Skandinav. Arch. f. Physiol. 40, 1. 1920 u. früher.

[4]) Fr. Haase, diese Zeitschr. 98, 159. 1919.

[5]) S. Kostytschew und S. Subkowa, H. 111, 132. 1920.

[6]) C. Neuberg und Joh. Kerb, diese Zeitschr. 43, 494. 1912; 64, 251. 1914; Ber. 47, 2730. 1914.

[7]) Ber. 47, 2550. 1914.

schiedene Heferassen ganz enorme biochemische Unterschiede aufweisen". Man muß aber verlangen, daß wirkliche Eingriffe in den Gärungsvorgang sich stets, sei es mit beliebigen Hefen, sei es mit daraus erhaltenen diversen Präparationen, reproduzieren lassen, wie das z. B. bei den Neubergschen Abfangverfahren der Fall ist. Ich will auch nur kurz darauf hinweisen, daß für die Einsicht in das Zusammenwirken von Oxydations- und Reduktionsprozessen bei der Gärung mit einer Beobachtung von Acetaldehydspuren gar nichts gewonnen wäre, selbst wenn ihre sekundäre Bildung ausgeschlossen werden könnte; denn es fehlt auf alle Fälle jede Auskunft über die entsprechende reduktive Leistung, wie sie bei der ergiebigen Verwirklichung der zweiten und dritten Vergärungsform von Neuberg, Färber und Reinfurth[1]) sowie Neuberg und Hirsch[2]) in erschöpfender Weise erteilt worden ist.

Ich wandte mich dem Studium der Reduktionswirkung verschiedener Trockenhefen gegenüber dem Methylenblau zu und untersuchte besonders den Einfluß verschiedener Salze auf diesen Vorgang, weil dafür Kostytschew und Subkowa eine spezifische Rolle von Zink- und Cadmiumionen angegeben und sie auf eine spezifische Beeinflussung der Hefenreduktase bezogen haben. Soweit ich der Arbeit der genannten Autoren entnehmen kann, haben sie nur mit einem einzigen Hefematerial, nämlich der Trockenhefe nach von Lebedew, gearbeitet, die als solche oder in Form des etwas unreineren Handelsproduktes Hefanol zur Anwendung kam. Um von Zufälligkeiten freie Resultate zu erlangen[3]), habe ich eine größere Anzahl im Laboratorium sorgfältig hergestellter Trockenhefen untersucht, die teils untergärigen, teils obergärigen Charakters waren und sämtlich als sehr gärkräftig befunden wurden.

Bevor ich auf die im nachfolgenden tabellarisch wiedergegebenen Befunde im einzelnen eingehe, will ich das an einem großen Tatsachenmaterial gefundene Ergebnis vorwegnehmen. Es zeigte sich, daß man genau den gleichen Erfolg wie mit Zink- oder Cadmiumsalzen hinsichtlich einer Verhinderung der Methylenblauentfärbung auch mit zahlreichen anderen Verbindungen

[1]) Diese Zeitschr. 78, 238. 1916; 89, 365 und 92, 234. 1918.

[2]) Diese Zeitschr. 96, 175 und 100, 304. 1919.

[3]) gegebenenfalls auch um eine stärkere Mitwirkung der Methylenblau entfärbenden Kraft von Bakterienleibern hintanzuhalten.

erzielen kann. Bleiacetat, Kalialaun, Aluminiumchlorid, Sublimat, Kupfersulfat, essigsaures Uran, Ferriammonsulfat verhindern oder verringern bei verschiedenen Trockenhefen die Entfärbung des Methylenblaus. Neutrales Uranacetat äußert zumeist keinen Einfluß auf die Methylenblaureduktion, und Magnesiumchlorid sowie Magnesiumsulfat sind fast immer irrelevant. Vor allem aber zeigen die verschiedenen äußerst gärtüchtigen Hefen an sich und zu verschiedenen Zeiten sehr beträchtliche Unterschiede in ihrem Verhalten gegenüber Methylenblau bei Gegenwart der genannten Salze, so daß die von Kostytschew und Subkowa betonte Regelmäßigkeit der Erscheinung nicht vorhanden ist. Ob der angeblich spezifische Einfluß der Cadmium- und Zinksalze nicht einfach auf den Metallcharakter dieser Verbindungen zurückzuführen ist, scheint durchaus diskutabel; denn Sublimat, Kupfersulfat und Alaun sind als gute Fällungsmittel für zahlreiche basische Substanzen bekannt, und es ist möglich, daß ihre Wirkung darauf beruht, daß sie teils an Bestandteilen der Trockenhefen, teils am Methylenblau selber angreifen und dadurch die Entfärbungsreaktion behindern.

Die russischen Forscher haben allem Anschein nach übersehen, daß Cadmiumbromid mit Methylenblau direkt eine unlösliche Verbindung eingeht. Es werden 0,02 g Methylenblau, die in 2,0 ccm heißem Wasser gelöst sind, durch eine Lösung von 0,0273 g Cadmiumbromid (= 0,0001 Mol.) in 5,0 ccm augenblicklich und so vollständig als kupferfarbene Krystallmasse gefällt, daß die über dem sich absetzenden Niederschlag stehende oder abfiltrierte Flüssigkeit nur noch ganz schwach hellgrün gefärbt ist. Es ist nun durchaus möglich, daß auch in den Fällen, wo keine sichtbare Ausflockung[1]) erfolgt, trotzdem mehr oder minder feste Komplexverbindungen der Salze mit dem Methylenblau eintreten, die einen Angriff durch die reduzierenden Faktoren der Hefe verhindern oder erschweren, ohne daß es hierbei sich um einen spezifischen Fermentprozeß zu handeln braucht. Dafür spricht auch der Umstand, daß in Gegenwart von mehr Wasser öfter die Unterschiede im Entfärbungsgrad undeutlicher werden; es könnte also eine Dissoziation der Additionsverbindungen zwischen Methylenblau und Metallsalzen und damit eine Vor-

[1]) Die Aussalzbarkeit des Methylenblaus durch Chlorzink ist eine bekannte technische Erfahrung; vgl. A. Bernthsen, Ann. 258, 1. 1889.

ringerung ihrer scheinbaren Reduktasehemmung eintreten. Die russischen Autoren geben an, daß Methylenblau in Anwesenheit einer ganz geringen Menge von Cadmiumbromid durch Trockenhefe nicht reduziert wird, nämlich wenn 1 g Trockenhefe mit 0,02 g Methylenblau und 0,0001 Molekül Cadmiumbromid zusammentrifft. Da jedoch $CdBr_2$ das Molekulargewicht 273 hat, so ist in Wirklichkeit die Cadmiummenge gar nicht so klein, vielmehr größer als die des Methylenblaus, indem sie 0,0273 g oder rund die 1,8fach molek. Menge beträgt.

Um die Wirkungsweise der übrigen von mir geprüften Metallsalze mit der des Cadmiumbromids vergleichen zu können, habe ich auch bei diesen anderen Metallverbindungen stets eine Menge von $^1/_{10000}$ Mol. bzw. $^2/_{10000}$ Mol. auf 0,02 g Methylenblau angewendet.

## Auszug aus den Protokollen.

**1. Versuche über die Fällbarkeit von Methylenblau mit Metallsalzen.**

a) 0,2 g Methylenblau (purissim., chlorzinkfrei) werden in 20 ccm heißem Wasser gelöst.

b) Ferner werden 0,273 g wasserfreies Cadmiumbromid in 10 ccm Wasser gelöst. Beim Zusammengeben von 1,0 ccm der Lösung a) mit 1,0 ccm der Lösung b) tritt ein starker bronzefarbener Niederschlag auf. Bewahrt man die Mischung einige Stunden auf, so ist die von der Fällung sich abhebende Flüssigkeit farblos. Die Ausfällung ist noch vollständiger als bei den zuvor (s. S. 153) erwähnten dünneren Lösungen.

Ebenso entstehen Niederschläge bei Mischung gleicher Volumina 1 proz. Methylenblaulösung und folgender Salzauflösungen:

α) $Al_2Cl_6 + 12\,H_2O$ (0,267 : 10) = grünlich schillernde Krystalle;

β) $HgCl_2$ (0,271 : 10) = violettroter Krystallbrei;

γ) $CdCl_2 + 2\,H_2O$ (0,219 : 10) = Krystalle, Flüssigkeit wesentlich entfärbt;

δ) $Cd(NO_3)_2 + 4\,H_2O$ (0,308 : 10) = geringe Fällung;

ε) Bleiacetat (0,38 : 10), Uranylacetat (0,43 : 10) und Zinknitrat (0,30 : 10) erzeugen Spuren von Niederschlägen.

**2. Ansätze mit Cadmiumsalzen, Methylenblau und verschiedenen Trockenhefen.**

Den Grad der Entfärbung geben wir durch folgende Zeichen wieder:

++++ = völlige Entfärbung,
+++ = starke Entfärbung,
++ = mäßige Entfärbung,
+ = geringe Entfärbung,
0 = unverändertes Bestehen der blauen Farbe.

Tabelle I.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | 1 g Trockenhefe | Zustand nach 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ *) | 0,02 | Senst | + |
| 2 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 3 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Patzenhofer | ++ |
| 4 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 5 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | — | 0 |
| 6 | 10 | 0,0219 g $CdCl_2 + 2\,H_2O$ | 0,02 | Senst | ++ |
| 7 | 10 | — | 0,02 | " | +++ |
| 8 | 10 | 0,0219 g $CdCl_2 + 2\,H_2O$ | 0,02 | Patzenhofer | + |
| 9 | 10 | — | 0,02 | " | ++ |
| 10 | 10 | 0,0219 g $CdCl_2 + 2\,H_2O$ | 0,02 | — | 0 |

*) $^1/_{10000}$ Mol des Salzes $CdSO_4 + {}^8/_3\,H_2O$; vgl. Gmelin-Kraut, IV. 1. S. 126, 1911.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß Cadmiumsulfat keineswegs die Entfärbung dés Methylenblaus durch Trockenhefe Senst aufhebt, sondern sie nur etwas vermindert. Bei Patzenhofer Hefe ist eine Behinderung gar nicht vorhanden. Bei Cadmiumchlorid, das in doppelt so großer Wassermenge wie das Sulfat untersucht wurde, ist wiederum bei der Sensthefe der hindernde Einfluß nur unbedeutend.

Ansätze mit Cadmiumsalz und anderen Hefen.

Es zeigte sich, daß meine Probe der Münchener Hefe von Schroder (Original-Lebedew-Hefe) sich in cadmiumsulfathaltiger und cadmiumsulfatfreier Lösung vollkommen gleichmäßig verhielt, d. h. das Cadmiumsalz vermochte hier nicht die Entfärbung zu verhindern. Die Hefe Engelhardt sowie eine zu anderer Zeit erhaltene Probe von Patzenhofer brachte in Gegenwart von schwefelsaurem Cadmium eine geringere Entfärbung als in der salzfreien Probe zuwege. Dagegen war gar kein Einfluß des Cadmiumsalzes zu konstatieren bei der Trockenhefe der Happoldtbrauerei, bei der untergärigen Hefe U des Berliner Institutes für Gärungsgewerbe sowie bei der Pfefferberg-Hefe. Sämtliche Trockenhefen befand ich als stark gärkräftig.

Tabelle II.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | 1 g Hefe | Zustand nach 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Münchener Hefe | ++ |
| 2 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 3 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Engelhardt | + |
| 4 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 5 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Patzenhofer | + |
| 6 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 7 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Pfefferberg | ++ |
| 8 | 5 | — | 0,02 | " | ++ |
| 9 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Hefe U d. Inst. f. Gär.-Gew. | 0 |
| 10 | 5 | — | 0,02 | dgl. | 0 |
| 11 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | Happoldt | 0 |
| 12 | 5 | — | 0,02 | " | 0 |

Die Versuche lehren, daß eine ebenmäßige Wirkung aller gärfähigen Trockenhefen in ihrer entfärbenden Kraft nicht besteht; einzelne Hefen entfärben gleichartig in Abwesenheit oder Gegenwart von Cadmiumsalz, andere verküpten den Farbstoff überhaupt nicht erkennbar.

Tabelle III.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand nach 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | — | 0,02 | Senst | +++ |
| 2 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | ++ |
| 3 | 5 | 0,0949 g Kalialaun | 0,02 | " | + |
| 4 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | " | + |
| 5 | 5 | — | 0,02 | Pfefferberg | +++ |
| 6 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 7 | 5 | 0,0949 g Kalialaun | 0,02 | " | + |
| 8 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | " | + |
| 9 | 5 | — | 0,02 | Patzenhofer | +++ |
| 10 | 5 | 0,379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 11 | 5 | 0,0949 g Kalialaun | 0,02 | " | + |
| 12 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | " | + |
| 13 | 5 | — | 0,02 | Engelhardt | +++ |
| 14 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 15 | 5 | 0,0949 g Kalialaun | 0,02 | " | + |
| 16 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | " | + |
| 17 | 5 | — | 0,02 | Münchener Hefe | +++ |
| 18 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | ++ |
| 19 | 5 | 0,0949 g Kalialaun | 0,02 | " | + |
| 20 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | " | + |

Ich ging nun dazu über, weitere Metallsalze an Stelle der Cadmiumverbindungen zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle III wiedergegeben.

Als Resultat läßt sich feststellen, daß Aluminium- und Bleisalze bei den verschiedenen Hefen regelmäßiger und teilweise auch stärker als das zuvor geprüfte schwefelsaure Cadmium die Methylenblauentfärbung hemmen. Aluminiumchlorid erzeugt (wie $CdBr_2$) einen Niederschlag mit dem Farbstoff, dessen Tiefe natürlich sich scheinbar etwas bei Vermischung mit der fast weißen festen Hefe aufhellt.

Tabelle IV.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand nach 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | — | 0,02 | Senst | +++ |
| 2 | 5 | 0,0480 g $FeNH_4(SO_4)_2$ + 12 Aq. | 0,02 | " | + |
| 3 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ + 6 Aq. | 0,02 | " | ++ |
| 4 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ + 7 Aq. | 0,02 | " | ++ |
| 5 | 5 | — | 0,02 | Pfefferberg | ++ |
| 6 | 5 | 0,0480 g $FeNH_4(SO_4)_2$ + 12 Aq. | 0,02 | " | + |
| 7 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ + 6 Aq. | 0,02 | " | + |
| 8 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ + 7 Aq. | 0,02 | " | + |
| 9 | 5 | — | 0,02 | Patzenhofer | ++ |
| 10 | 5 | 0,0480 g $FeNH_4(SO_4)_2$ + 12 Aq. | 0,02 | " | + |
| 11 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ + 6 Aq. | 0,02 | " | ++ |
| 12 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ + 7 Aq. | 0,02 | " | ++ |
| 13 | 5 | — | 0,02 | Engelhardt | +++ |
| 14 | 5 | 0,0480 g $FeNH_4(SO_4)_2$ + 12 Aq. | 0,02 | " | + |
| 15 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ + 6 Ag. | 0,02 | " | ++ |
| 16 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ + 7 Aq. | 0,02 | " | ++ |
| 17 | 5 | — | 0,02 | Löwenbräu | +++ |
| 18 | 5 | 0,0480 g $FeNH_4(SO_4)_2$ + 12 Aq. | 0,02 | " | + |
| 19 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ + 6 Aq. | 0,02 | " | + |
| 20 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ + 7 Aq. | 0,02 | " | + |

Das Verhalten anderer Salze gibt die Tabelle IV wieder. Ferriammonsulfat besitzt eine deutliche und begreifliche reduktionsverhindernde Wirkung; bei Magnesiumsalzen wird sie nur selten beobachtet.

## Vergleichende Wirkung von Cadmiumsalzen mit Bleiacetat[1]).

Ersichtlich hemmt Bleiacetat die entfärbende Wirkung der Schultheißhefe genau so stark wie die Cadmiumverbindungen.

[1]) Hier und im folgenden ist in den Tabellen der Wassergehalt der Salze nicht mit aufgeführt; verwendet wurde $^1/_{10000}$ Mol.

Tabelle V.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand nach 24 Std. |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | — | 0,02 | Senst | ++ |
| 2 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | ++ |
| 3 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | ++ |
| 4 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | ++ |
| 5 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 6 | 5 | — | 0,02 | Schultheiß | ++ |
| 7 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | 0 |
| 8 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 9 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 10 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 11 | 5 | — | 0,02 | Patzenhofer | ++ |
| 12 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | 0 |
| 13 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 14 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 15 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 16 | 5 | — | 0,02 | Engelhardt | ++ |
| 17 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + |
| 18 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | + |
| 19 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | + |
| 20 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | + |
| 21 | 5 | — | 0,02 | Löwenbräu | ++ |
| 22 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | 0 |
| 23 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 24 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | 0 |
| 25 | 5 | 0,0379 g $Pb(CH_3CO_2)_2$ | 0,02 | " | ++ |

Bei Hefe Senst war das Maß der Bleiwirkung um einen Grad geringer, bei Patzenhofer um ebenso viel größer. Bei Hefe Engelhardt war eine schädigende Wirkung aller Metallsalze vorhanden, wenn auch nicht sehr ausgeprägt, während die Löwenbräuhefe durch die Cadmiumverbindungen stark, durch das Bleisalz gar nicht gehemmt wurde.

Tabelle VI.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand nach Stunden | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 24 | 48 |
| 1 | 5 | — | 0,02 | Senst | +++ | +++ |
| 2 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | ++ (Niederschlag) | ++ |
| 3 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | ++ | ++ |
| 4 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | +++ | +++ |
| 5 | 5 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | " | +++ | +++ |
| 6 | 5 | 0,0297 g $Zn(NO_3)_2$ | 0,02 | " | +++ | +++ |
| 7 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | " | +++ | +++ |
| 8 | 5 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | " | 0 | 0 |
| 9 | 5 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | " | 0 | 0 |

Tabelle VI (Fortsetzung).

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand nach Stunden 24 | 48 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 10 | 5 | — | 0,02 | Patzen- | ++ | ++ |
| 11 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | hofer | + Niederschlag | + |
| 12 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 13 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + | + |
| 14 | 5 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 15 | 5 | 0,0297 g $Zn(NO_3)_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 16 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | " | ++ | ++ |
| 17 | 5 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | " | 0 | 0 |
| 18 | 5 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | " | 0 | 0 |
| 19 | 5 | — | 0,02 | Löwen- | +++ | +++ |
| 20 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | bräu | + Niederschlag | + |
| 21 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 22 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | ++ | ++ |
| 23 | 5 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 24 | 5 | 0,0297 g $Zn(NO_3)_2$ | 0,02 | " | + | + |
| 25 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | " | +++ | +++ |
| 26 | 5 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | " | 0 | 0 |
| 27 | 5 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | " | 0 | 0 |

Hier ist bemerkenswert, daß das Sulfat und Nitrat des Cadmiums wie das salpetersaure Zink innerhalb 24 und 48 Stunden keinen Einfluß auf die Methylenblauentfärbung durch Sensthefe äußerten. Chlorid und Bromid des Cadmiums wirkten ein wenig, Quecksilber- und Kupfersalz hemmten vollständig. Bei der Patzenhofer Hefe war eine ausgesprochene reduktionshemmende Wirkung nur bei Kupfervitriol und Sublimat festzustellen, während bei der Löwenbräuhefe die Verhältnisse ähnlich lagen. Das Chlormagnesium erwies sich in allen Fällen als wirkungslos.

## Vergleiche verschiedener Salze und Hefen bei wechselnder Wassermenge.

Tabelle VII.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand n. Std. 24 | 48 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5 | — | 0,02 | Senst | ++ | +++ |
| 2 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 3 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 4 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 5 | 5 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 6 | 5 | 0,0136 g $ZnCl_2$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 7 | 5 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 8 | 5 | 0,0298 g $Zn(NO_3)_2$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 9 | 5 | 0,0238 g $Zn(C_2H_3O_2)_2$ + 3 Aq. | 0,02 | " | + | ++ |
| 10 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | " | ++ | +++ |

## Tabelle VII (Fortsetzung).

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand n. Std. 24 | 48 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | Senst | ++ | +++ |
| 12 | 5 | 0,0425 g $UO_2(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 13 | 5 | 0,0379 g $Pb(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 14 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 15 | 5 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 16 | 5 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 17 | 10 | — | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 18 | 10 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 19 | 10 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 20 | 10 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 21 | 10 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 22 | 10 | 0,0136 g $ZnCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 23 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 24 | 10 | 0,0238 g $Zn(C_2H_3O_2)_2$ + 3 Aq. | 0,02 | „ | + | ++ |
| 25 | 10 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 26 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 27 | 10 | 0,0425 g $UO_2(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 28 | 10 | 0,0379 g $Pb(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | + | +++ |
| 29 | 10 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 30 | 10 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 31 | 10 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 32 | 5 | — | 0,02 | Löwen- | ++ | +++ |
| 33 | 5 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | bräu | + | ++ |
| 34 | 5 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 35 | 5 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | „ | + | + |
| 36 | 5 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 37 | 5 | 0,0136 g $ZnCl_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 38 | 5 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 39 | 5 | 0,0298 g $Zn(NO_3)_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 40 | 5 | 0,0238 g $Zn(C_2H_3O_2)_2$ + 3 Aq. | 0,02 | „ | + | + |
| 41 | 5 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 42 | 5 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | „ | ++ | ++ |
| 43 | 5 | 0,0425 g $UO_2(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 44 | 5 | 0,0379 g $Pb(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 45 | 5 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 46 | 5 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 47 | 5 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 48 | 10 | — | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 49 | 10 | 0,0272 g $CdBr_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 50 | 10 | 0,0219 g $CdCl_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 51 | 10 | 0,0257 g $CdSO_4$ | 0,02 | „ | + | + |
| 52 | 10 | 0,0308 g $Cd(NO_3)_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 53 | 10 | 0,0136 g $ZnCl_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 54 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | „ | + | + |
| 55 | 10 | 0,0238 g $Zn(C_2H_3O_2)_2$ + 3 Aq. | 0,02 | „ | + | + |
| 56 | 10 | 0,0203 g $MgCl_2$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 57 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | „ | ++ | +++ |
| 58 | 10 | 0,0425 g $UO_2(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | + | + |
| 59 | 10 | 0,0379 g $Pb(C_2H_3O_2)_2$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 60 | 10 | 0,0270 g $Al_2Cl_6$ | 0,02 | „ | + | ++ |
| 61 | 10 | 0,0249 g $CuSO_4$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |
| 62 | 10 | 0,0271 g $HgCl_2$ | 0,02 | „ | 0 | 0 |

Die Versuche mit der Löwenbräuhefe enthüllen wiederum die komplett hemmende Wirkung von Kupfersulfat und Quecksilberchlorid, ferner die Einflußlosigkeit des Magnesiumchlorids sowie geringe Wirkung des Magnesiumsulfats. Alle übrigen Verbindungen hemmten innerhalb 24 Stunden um einen Grad, innerhalb 48 Stunden mehrfach um 2 Grade. Bei der Sensthefe sieht man folgendes Bild: Cadmiumchlorid, Zinknitrat, Magnesiumchlorid, Magnesiumsulfat, Uranylacetat, Bleiacetat und Aluminiumchlorid hemmten in diesem Falle innerhalb 24 Stunden gar nicht, innerhalb 48 Stunden war die Entfärbung in Kontrolle und Metallsalzproben weiter fortgeschritten; das Verhältnis änderte sich dabei nicht. Nur Quecksilber- und Kupfersalz unterbanden dauernd die Entfärbung. Bei der Löwenbräuhefe äußerten Cadmiumchlorid sowie die beiden Magnesiumsalze innerhalb eines wie zweier Tage kaum eine Hemmkraft, während die übrigen Metallverbindungen bis auf die vollständig vorbeugenden Quecksilber- und Kupfersalze ein wenig die Entfärbung herabsetzten. Recht bemerkenswert ist der Einfluß der Verdünnung; denn bei Verdoppelung der Wassermenge fällt bei der Sensthefe der schädigende Einfluß auch des Cadmiumbromids, des Cadmiumsulfats, des Cadmiumnitrats und des Zinkchlorids fort, während der von Kupfersulfat und Sublimat unverändert bestehen bleibt. Bei der Löwenbräuhefe war die Verdünnung gegenüber der stärkeren Konzentration ohne wesentlichen Einfluß; Kupfer- und Quecksilbersalz entfalteten immer einen starken Effekt.

## Vergleichende Versuche über die Wirkung verschiedener Sulfate mit verschiedenen Hefen.

### Tabelle VIII.

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand u. Std. 24 | 48 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 10 | — | 0,02 | Senst | ++ | +++ |
| 2 | 10 | 0,0208 g $CdSO_4$ (wasserfrei) | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 3 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 4 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 5 | 10 | 0,0132 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 6 | 10 | 0,0264 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 7 | 10 | — | 0,02 | Pfefferberg | + | ++ |
| 8 | 10 | 0,0208 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 9 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 10 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |

Tabelle VIII (Fortsetzung).

| Lfd. Nr. | Wasser ccm | Metallsalz | Methylenblau g | Hefe | Zustand u. Std. 24 | 48 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 11 | 10 | 0,0132 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | Pfefferberg | + | ++ |
| 12 | 10 | 0,0264 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 13 | 10 | — | 0,02 | Patzenhofer | + | ++ |
| 14 | 10 | 0,0208 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 15 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 16 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 17 | 10 | 0,0132 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 18 | 10 | 0,0264 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 19 | 10 | — | 0,02 | Engelhardt | ++ | +++ |
| 20 | 10 | 0,0208 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | + | ++ |
| 21 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 22 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 23 | 10 | 0,0132 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 24 | 10 | 0,0264 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 25 | 10 | — | 0,02 | Löwenbräu | ++ | +++ |
| 26 | 10 | 0,0208 g $CdSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 27 | 10 | 0,0287 g $ZnSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 28 | 10 | 0,0246 g $MgSO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 29 | 10 | 0,0132 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |
| 30 | 10 | 0,0264 g $(NH_4)_2SO_4$ | 0,02 | " | ++ | +++ |

Bei der stärkeren Verdünnung erwies sich der Hefe Engelhardt gegenüber nur das Cadmiumsulfat innerhalb 24 Stunden als hemmend, und zwar um einen Grad. Bei allen übrigen Salzen war keine Hemmung zu konstatieren. Gegenüber der Löwenbräuhefe und den Hefen Patzenhofer und Pfefferberg zeigten die benutzten Sulfate überhaupt keinen Einfluß; das Bild änderte sich bei diesen Hefeproben auch nach 48 Stunden nicht.

## Zusammenfassung.

1. Weder Cadmium- noch Zinksalze zeigten eine spezifische Wirkung auf die Entfärbung des Methylenblaus, wenn man verschiedene Hefen prüft. Die Metallverbindungen hemmten zwar in manchen Fällen, aber durchaus nicht regelmäßig.

2. Kupfersulfat und Sublimat unterbanden im Gegensatz zu Zink- und Cadmiumderivaten die Reduktion des Farbstoffs durch Trockenhefen ausnahmslos; Blei-, Eisen- und Uransalze konnten sie behindern.

3. Das Entfärbungsvermögen der verschiedenen Trockenhefen gegenüber dem Methylenblau wechselte außerordentlich,

und die Beeinflussung durch die verschiedenen Metallsalze unterlag gleichfalls beträchtlichen Schwankungen.

4. Verdoppelte man die Wassermenge in den sonst identischen Ansätzen, so war im allgemeinen eine hemmende Kraft, die bei höherer Konzentration zutage trat, verringert oder aufgehoben.

5. Die Reduktionskraft der Trockenhefen wechselte nicht nur von Rasse zu Rasse, sondern war auch bei derselben Sorte ungleich, wenn die Herstellung der Trockenhefen zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgt war.

6. Die Differenzen, welche die verschiedenen Hefen in ihrem Verhalten zum Methylenblau in Gegenwart und Abwesenheit von Metallsalzen gegenüber diesem Farbstoff aufwiesen, sprechen dafür, daß es sich hier um Einflüsse des physiologischen Zustandes, insbesondere wohl der Ernährung usw., handelt. Ein Zusammenhang mit dem Komplex der zymatischen Fermente erscheint problematisch.

---

# Über die Umsetzung der d-Galaktose nach der zweiten Vergärungsform.

Von

**M. Tomita.**

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 22. Mai 1921.)*

Die 3 zusammengehörigen Hexosen d-Glucose, d-Mannose und d-Fruchtzucker werden durch Hefe auf gleiche Weise zerlegt. Das gilt nicht nur für den normalen alkoholischen Zuckerzerfall, sondern auch für die künstlich abgeänderten Spaltungen der erwähnten Kohlenhydrate unter dem Einfluß von Zusatzmitteln, d. h. bei der Umsetzung nach der 2. und 3. Vergärungsform.

Nicht geprüft ist bisher das Verhalten der d-Galaktose. Diese Zuckerart ist gleichfalls der Vergärung fähig, aber etwas schwieriger. Die früher vorhandenen Widersprüche über die Vergärbarkeit dieses Kohlenhydrats sind durch v. Lippmann[1]) sowie Tollens und Stone[2]) dahin geklärt worden, daß bei Gegenwart geeigneter Nährlösungen und eines Hefenauszuges die Galaktose zwar nicht so schnell wie Traubenzucker, aber schließlich genau so vollständig wie dieser vergoren werden kann.

v. Lippmann, Tollens und Stone wandten einen Hefendekokt an, haben also unbewußt Ko-Ferment oder Vitamine zugefügt, worin ihnen die meisten späteren Autoren gefolgt sind. Sodann fanden E. Fischer und J. Hertz[3]), daß die d-Galaktose in 5—6 Tagen bei 30° gänzlich vergärbar ist; E. Fischer und Mitarbeiter[4]) zeigten für zahlreiche Reinkulturen die Fähigkeit, Galaktose kräftig umzusetzen. Bau[5]) hat diese Angaben erweitert,

[1]) E. O. v. Lippmann, B. **20**, 1001. 1887.

[2]) B. Tollens und W. E. Stone, B. **21**, 1572. 1888.

[3]) E. Fischer und J. Hertz, B. **25**, 1259. 1892.

[4]) B. **27**, 2034. 1894.

[5]) A. Bau, Chemiker-Zeit. **18**, 1799. 1894; **21**, 188. 1897.

und aus diesen Beobachtungen sowie solchen von Lindner[1]) und Kozai[2]) geht hervor, daß eine beträchtliche Zahl ober- und untergäriger Hefen Galaktose, wenn auch öfter verlangsamt, umzusetzen vermag. Erwähnt sei noch, daß es vielfach gelungen ist, Galaktose nicht- oder schlechtvergärende Hefen an diese Zuckerart zu gewöhnen. Der Merkwürdigkeit halber erwähne ich eine Feststellung von E. Fischer und Thierfelder[3]), gemäß der das Galaktosederivat Milchzucker leicht und vollständig umsetzbar war, während derselbe Erreger gegenüber d-Galaktose allein nur eine geringe zerlegende Kraft aufwies; man kann daran denken, daß es sich dabei um eine besonders geartete Zymase der verwendeten Milchzucker-Hefensorte gehandelt hat, möglich wäre aber auch, daß ein katalysierender Einfluß, der von der Traubenzuckerkomponente oder Gärungszwischenprodukten ausgeht, mit im Spiele gewesen ist. Ähnliche Unterschiede sind auch für die Vergärbarkeit von Galaktose und Melibiose bekannt.

Für die beabsichtigte Untersuchung, d. h. zur Acetaldehyd-Glycerinspaltung des Zuckers, kommen nach den Erfahrungen von Neuberg und Reinfurth[4]) am besten Hefen obergärigen Charakters in Betracht, da diese gegen das anzuwendende alkalisch reagiernde Salz resistenter sind als die in der Regel empfindlicheren Unterhefen. Ich benutzte eine Hefe der Engelhardt-Brauerei, die an die Vergärung von Galaktose gewöhnt war. Zunächst beschränkte ich mich darauf, festzustellen, ob dabei die d-Galaktose Acetaldehyd in größeren Mengen zu liefern imstande war.

## I.

9 g d-Galaktose wurden in 50 ccm der Neuberg Reinfurthschen Nährmischung gelöst und mit 9 g Hefe versetzt. Nach erfolgter Angärung fügte ich 6 g Dinatriumsulfit in 50 ccm Wasser hinzu. Das Gemisch blieb im Brutschrank 8 Tage stehen und ergab bei direkter Prüfung mit Nitroprussidnatriumlösung und Piperidin starke Reaktion auf Acetaldehyd. Nach der Destillations-Titrationsmethode von Neuberg und Reinfurth erhielt ich 0,778 g Acetaldehyd = 8,64%.

---

[1]) P. Lindner, Chem. C. 1901. I. 56.

[2]) Y. Kozai, Chem. C. 1900. II. 221.

[3]) B. 27, 2034. 1894.

[4]) C. Neuberg und E. Reinfurth, diese Zeitschr. 89, 381. 1918.

II.

9 g d-Galaktose in 50 ccm der Nährmischung und 18 g Hefe, alsdann Zugabe von 6 g sekundärem schwefligsauren Natrium in 50 ccm Wasser. Bei der größeren Hefemenge wurde die Galaktose vollständiger vergoren; es waren nach 8 Tagen 0,949 g = 10,54% Acetaldehyd entstanden.

Weiter bin ich darauf dazu übergegangen, mich zu vergewissern, ob diese Acetaldehydbildung von einer entsprechenden Glycerin-produktion begleitet ist.

III.

15 g d-Galaktose wurden in 80 ccm der Nährmischung gelöst und mit 30 g der Hefe zur Angärung gebracht; dann wurde 10 g wasserfreies, neutrales schwefligsaures Natrium in 80 ccm Wasser hinzugegeben. Nach 9tägiger Digestion wurde in einer aliquoten Menge wieder der Acetaldehyd ermittelt, und zwar zu 8,50% vom Gewicht aller angewendeten Galaktose. Die Glycerinanalyse, ebenfalls nach den Angaben von Neuberg und Reinfurth in einem anderen Anteile ausgeführt, lieferte 17,42% Trioxypropan.

Demnach entstehen Acetaldehyd und Glycerin im molekularen Verhältnis, und die d-Galaktose ist genau wie die 3 anderen gärungsfähigen Hexosen einer wahren Acetaldehyd-Glycerinspaltung fähig.

# Über den Abbau des l-Tryptophans durch Proteusbakterien.

Von

**Takaoki Sasaki** und **Ichiro Otsuka.**

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundo-Hospital zu Tokio.)

*(Eingegangen am 5. Juni 1921.)*

Sasaki hat früher festgestellt[1]), daß Abbauprodukte einer bestimmten Aminosäure durch denselben Stamm gewisser Bakterienarten von gleichem Kulturalter je nach Bedingungen entweder in qualitativ ganz verschiedener Art oder in quantitativ veränderten Verhältnissen auftreten. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß in Gegenwart des Glycerins und der Hendersonschen Phosphatmischung als Puffer dabei hauptsächlich α-Hydroxysäure entsteht, während dagegen ohne Puffer, dazu noch unter Zusatz von Milchzucker, d. i. unter der ungünstigsten Bedingung für die Säurebildung, aus der Aminosäure infolge der Wasserstoffionenanhäufung, hauptsächlich die entsprechende Amine gebildet werden, wenn der Bakterienstamm wild und lebhaft, d. h. nicht durch wiederholte künstliche Fortzüchtung und sonstige Umstände, abgeschwächt ist, sodaß die verwendeten Bakterien nicht mehr oder nur schwer die Aminosäure selbst anzugreifen imstande sind.

Unter der Bedingung der Säurebildung bearbeitet, haben wir aus l-Tryptophan durch Einwirkung von Proteusbakterien l-Indolmilchsäure als ein Abbauprodukt isoliert. Diese Säure wurde auch von Ehrlich und Jakobson[2]) aus dem l-Tryptophan durch die Wirkung des Schimmelpilzes Oidium lactis erhalten und ganz gut charakterisiert. Bei den Bakterien hatten wir große Schwierigkeit, die dabei entstehenden harzigen Massen abzutrennen und Krystallisation zu erzielen. Nach der Er-

[1]) Diesbezügliche Literatur vgl. die Abhandlung von K. Hirai, diese Zeitschr. 114, 71. 1921.

[2]) Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 44 888. 1911.

kennung der Tatsache, daß die Oxysäure durch eine basische Kupferacetatlösung fast quantitativ ausfällbar ist, gelang es uns schließlich, die reine Substanz in die Hand zu bekommen. Im übrigen verfuhren wir in bezug auf die Isolierung der Säure nach den erwähnten Autoren. Die Entstehung der linksdrehenden Indolmilchsäure aus l-Tryptophan durch Proteusbakterien ist in bezug auf konfigurative Betrachtungen über die α-Oxysäuren von Bedeutung.

Sasaki und Mitarbeiter hatten früher die merkwürdige Tatsache gefunden, daß Proteusbakterien sowohl aus l-Tyrosin als auch aus d-Tyrosin, somit aus beiden Antipoden, immer die rechtsdrehende p-Oxyphenylmilchsäure bilden, d. h. ganz unabhängig von der Konfiguration des Ausgangsmaterials stets die gleich drehende Oxysäure, während Subtilisbakterien ceteris paribus ausschließlich die entgegengesetzt drehende, d. h. lävogyre Oxysäure bilden. Es ist somit höchst wahrscheinlich, daß die durch Proteusbakterien aus verschiedenen Aminosäuren gebildeten α-Oxysäuren eine und dieselbe relative Konfiguration haben.

Da Proteusbakterien gewöhnlich reichlich Oxysäuren bilden, Subtilisbakterien dagegen manchmal die entsprechenden Oxysäuren zu spärlich produzieren, so daß sie schwer zu isolieren sind, haben wir bisher vorläufig mehr mit Proteusbakterien gearbeitet. Es wurden bisher die folgenden α-Oxysäuren durch Proteusbakterien dargestellt und näher charakterisiert:

| | Proteus | Subtilis |
|---|---|---|
| Aus l-Tyrosin[1]) <br> „ dl-Tyrosin[2]) <br> „ d-Tyrosin[3]) | d-p-Oxyphenylmilchsäure | l-p-Oxyphenylmilchsäure |
| „ dl-Phenylalanin[4]) | d-Phenylmilchsäure | l-Phenylmilchsäure |
| „ l-Histidin[5]) | d-Imidazolmilchsäure | |
| „ l-Leucin[6]) | d-Leucinsäure | l-Leucinsäure |
| „ l-Tryptophan | d-Indolmilchsäure | |

Daraus ergibt sich, daß 5 α-Oxysäuren (Proteus) trotz der ungleichen Drehung höchst wahrscheinlich gleiche stereochemische

[1]) T. Sasaki, Acta Schole Med. Univ. Imp. Kyoto I, 103. 1916—17.
[2]) M. Tsudji, ebenda 1, 439. 1916—17.
[3]) M. Tsudji, ebenda 2, 115. 1917—18.
[4]) H. Amatsu und M. Tsudji, ebenda 2, 447. 1917—18.
[5]) K. Hirai, ebenda 3, 49. 1919—20.
[6]) M. Arai, wird demnächst publiziert.

Konfiguration, wenigstens an der Stelle des $\alpha$-Kohlenstoffes aufweisen. Die Hoffnung, daß dieses Ergebnis eventuell später auch für das Studium der Konfiguration der Aminosäuren einen gewissen Beitrag liefern dürfte, ist nicht ganz von der Hand zu weisen.

Übrigens haben Proteusbakterien noch die bequeme Eigenschaft, auch aus den nicht in der Natur vorkommenden Aminosäuren entsprechende Oxysäuren zu bilden; wir haben schon aus $\alpha$-Naphtalanin[1]) und d, l-Furylalanin[2]) entsprechende optisch aktive $\alpha$-Oxysäuren dargestellt.

## Experimenteller Teil.

Proteusbakterien wurden wie üblich aus faulem Rinderpankreas isoliert. Die Untersuchung wurde unter strengen bakteriologischen Kautelen ausgeführt. Die verwendete Nährlösung hat die folgende Zusammensetzung:

| | |
|---|---|
| Kaliumchlorid . . . . . . . . . | 1,0 g |
| Ammoniumchlorid . . . . . . . | 1,0 „ |
| Magnesiumsulfat . . . . . . . . | 0,1 „ |
| Glycerin . . . . . . . . . . . | 25,0 „ |
| Hendersonsche Phosphatmischung | 170,0 ccm[3]). |

Die obige Mischung wurde mit Wasser auf 1 Liter aufgefüllt. Dazu kam noch ca. 0,5 g frisch gefälltes noch feuchtes Uranylphosphat. In 4 sterilen Kolben mit 800 ccm der sterilisierten obigen Nährlösung wurde je 2 g l-Trypyophan aus Casein (nach erneuerter Entkeimung) mit der Proteusaufschwemmung (je 20 Agarkulturen, 24 Stunden alt, in möglichst wenig Nährlösung aufgeschwemmt) versetzt.

Die Kolben wurden im Brutschrank bei 37° C bis zum Verschwinden der Tryptophanreaktion stehen gelassen: Dauer 44 Tage. Die Reaktion blieb dabei schwach lackmusalkalisch. Nach der Konstatierung der bakteriologischen Reinheit wurde der Inhalt sämtlicher Kolben vereinigt und unter vermindertem Druck bei möglichst niedriger Temperatur abdestilliert. Der alkoholische Extrakt des Rückstandes wurde von neuem unter vermindertem Druck abdestilliert. Der letzte Rückstand wurde

[1]) T. Sasaki und J. Kinose, siehe folgende Mitteilung.

[2]) Die Publikation „Über die Bildung der rechtsdrehenden Furylmilchsäure durch Proteusbakterien" wird später erfolgen.

[3]) Vgl. diese Zeitschr. 114. 84. 1921.

sodann in Wasser gelöst und nach Ansäuerung durch Phosphorsäure mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen der mit trockenem Glaubersalz entwässerten Ätherlösung in vacuo wurde die zurückgebliebene syrupose Masse mit warmem Wasser behandelt und abfiltriert. Das Filtrat wurde darauf mittelst Tierkohle geklärt, sodann mit einer basischen Kupferacetatlösung[1]) gefällt. Die Kupferfällung wog trocken 2,4 g. Der Niederschlag wurde in wässriger Suspension mit Schwefelwasserstoff behandelt. Die entkupferte, von Schwefelwasserstoff befreite Lösung wurde wiederum mit Äther extrahiert. Die letzte bis zu einem geeigneten Volumen eingeengte und mit frisch entwässertem Glaubersalz getrocknete Ätherlösung wurde unter starker Abkühlung mit Petroläther gefällt. Die schönen Krystalle wogen 1,22 g (aus 8 g Tryptophan). Die Substanz schmolz bei 98—99° C. Die Umfällung änderte den Schmelzpunkt nicht.

Die umkrystallisierte Substanz wurde zur Analyse bei 60° in vacuo getrocknet.

| | | | |
|---|---|---|---|
| 0,1303 g Subst. | $CO_2$ 0,3066 g, | $H_2O$ 0,0612 g | |
| 0,0932 „ Subst. | $^n/_{10}$-$NH_3$ 4,4 ccm | | |
| $C_{11}H_{11}O_2N$ | Ber. C 64,39, | H 5,37, | N 6,83 |
| | Gef. „ 64,18, | „ 5,25, | „ 6,61. |

22,3114 g wässerige Lösung, welche 0,3465 g Substanz, mithin 1,553% enthielt und das spezifische Gewicht 1,599 hatte, drehte im 2-Dezimeterrohr bei 15° Natriumlicht 0,29° nach links.

$$[\alpha]_D^{15} = -5,84°.$$

---

[1]) Die basische Kupferacetatlösung bereiteten wir immer frisch vor dem Gebrauch, indem wir eine gesättigte Kupferacetatlösung mit frisch gefälltem Kupferoxydhydrat gründlich schüttelten und dann filtrierten.

# Über den Abbau des d, l-α-Naphthalanins durch Proteusbakterien.

Von

**Takaoki Sasaki** und **Jiro Kinose.**

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundohospital zu Tokio.)

*(Eingegangen am 5. Juni 1921.)*

Die Erforschung der bakteriellen Abbauprodukte von Eiweißkörpern resp. Aminosäuren ist für Physiologie und Pathologie der Lebenserscheinungen sowohl der höheren Organismen als auch Mikroorganismen selbst von großer Bedeutung. Andererseits kann die zweckmäßige Verwendung der Mikroorganismen zur Darstellung und Kenntnis neuer chemischer Substanzen vielfach brauchbare Beiträge liefern.

So zum Beispiel hat Bertrand[1]) mit gutem Erfolge das sog. Sorbosebakterium für die Darstellung von Ketosen verwendet; durch Verwendung der Schimmelpilze haben Ehrlich und Jakobson[2]) optisch aktive α-Oxysäuren aus entsprechenden Aminosäuren erhalten.

Wir haben bisher die bakteriellen Abbauprodukte der Aminosäuren, besonders derèn qualitative und quantitative Verschiebung je nach den Bedingungen studiert. Dabei ist die Tatsache erkannt, daß die meisten in der Natur vorkommenden α-Aminosäuren und auch ihre Racemkörper unter bestimmten Bedingungen in die entsprechenden optisch aktiven α-Hydroxysäuren, und zwar je nach verwendeten Bakterienarten in beide optisch aktive Antipoden, umgewandelt werden. Wenn das Resultat auch für andere nicht in der Natur vorkommende Aminosäuren erweiterungsfähig wäre, würde die weitere Untersuchung wichtige Beiträge zur Kenntnis aktiver α-Hydroxysäure versprechen.

Zu dem Zwecke haben wir zuerst α-Naphthalanin zur Untersuchung herangezogen, welches bis jetzt nicht in der Natur

---

[1]) Zitiert nach Weyl, Die Methoden der org. Chemie Bd. II, S. 35

[2]) l. c.

gefunden wurde und auch höchst wahrscheinlich kein Naturprodukt ist. Wir haben zuerst nach Sasakis Glycinanhydridmethode d, l-Naphthalanin dargestellt. Naphthalanin wurde schon früher zuerst von T. Kikkoji[1]) nach der bekannten Erlenmeyerschen Methode dargestellt. Durch Proteusbakterien haben wir aus der Aminosäure unter Verwendung der Hendersonschen Phosphatmischung als Puffer, die rechtsdrehende α-Naphthylmilchsäure erhalten, welche unseres Wissens bisher noch nicht bekannt gewesen ist.

Mithin läßt sich erhoffen, daß man durch diese biologische Methode auch aus anderen synthetischen Aminosäuren entsprechende optisch aktive Alkoholsäuren gewinnen kann.

Da einer von uns, Kinose, wegen schwerer Krankheit auf die Laboratoriumsarbeit verzichten muß, publizieren wir zuerst die Untersuchung mit Proteus. Der Versuch, mit Subtilis den Antipoden zu erhalten, wird später gelegentlich vorgenommen werden.

## Experimenteller Teil.

### Synthese des α-Naphthalanins.

Kondensation des Glycinanhydrides mit α-Naphthaldehyd[1]) zu

$$C_{10}H_7 \cdot CH : C\left\langle\begin{matrix}CO-NH\\NH-CO\end{matrix}\right\rangle C : HC \cdot C_{10}H_7 .$$

7,8 g α-Naphthaldehyd (2 Mol) wurde mit 4,2 g fein pulverisierten Glycinanhydrid gemischt und unter Zusatz von 3,8 g frisch geschmolzenem Natriumacetat und 15 g Essigsäureanhydrid 6 Stunden auf 140—150° C erhitzt. Die erstarrte Reaktionsmasse wurde sodann mit viel warmem Wasser digeriert und nach dem Erkalten scharf abgesaugt und abgepreßt. Der Rückstand wurde darauf von neuem mit kaltem Alkohol behandelt, abgesaugt und noch mehrmals sorgfältig mit kaltem Alkohol gewaschen. Die Rohausbeute betrug 6,0 g = 61,5% der Theorie, auf den Aldehyd berechnet.

Der bräunlich gelbe Krystallpulver ist äußerst schwer löslich in üblichen organischen Solventien, schmolz resp. zersetzte sich noch nicht bei 320° C. Zur Weiterverarbeitung ist die Substanz rein genug.

---

[1]) T. Kikkoji, diese Zeitschr. 35, 66. 1911.

Zur Analyse wurde die Substanz aus viel siedendem Eisessig umkrystallisiert.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 0,1016 g Subst.: | $CO_2$ 0,2975 g, | $H_2O$ 0,0432 g, | | |
| 0,1730 „ Subst.: | 10,6 ccm N (758,4 mm, 14,5°), | | | |
| $C_{26}H_{18}O_2N_2$. | Ber. C 79,97, | H 4,64, | N 7,18, | |
| | Gef. „ 79,85, | „ 4,72, | „ 7,26. | |

**Reduktion und Spaltung des Kondensationsproduktes zu d, l-α-Naphthalanin.**

$$C_{10}H_7\cdot CH:C\langle{CO-NH \atop NH-CO}\rangle C:HC\cdot C_{10}H_7 \rightarrow C_{10}H_{17}CH_2CH(NH_2)COOH.$$

20 g Kondensationsprodukt (nicht umkrystallisiert) wurden mit 15 g rotem Phosphor und 217g Jodwasserstoffsäure (D = 1,7) versetzt und 8 Stunden unter Rückflusskühlung gekocht. Nach Zusatz von warmem Wasser und Abfiltrieren des Rückstandes wurde das Filtrat unter erneutem Zusatz des Wassers wiederholt im Vakuum abdestilliert. Der Destillationsrückstand wurde in Wasser aufgelöst und mit einer kalt gesättigten Natriumacetatlösung gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt und sorgfältig mit kaltem Wasser gewaschen. Die bei 100° getrocknete Substanz wog 20,2 g; die Rohausbeute betrug mithin 87,5% der Theorie.

Die Substanz wurde zur weiteren Reinigung in sehr verdünnter Salzsäure warm aufgelöst und mit Tierkohle behandelt. Das Filtrat wurde wieder mit Natriumacetatlösung gefällt. Die schuppenartig ausfallenden farblosen Krystalle schmolzen bei 240° C (unkorr.) unter Zersetzung.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum bei 100° getrocknet.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 0,1446 g Subst.: | $CO_2$ 0,3833 g, | $H_2O$ 0,0800 g, | | |
| 0,1210 „ Subst.: | 6,7 ccm N (756 mm, 15,5°), | | | |
| $C_{13}H_{13}O_2N$. | Ber. C 72,52, | H 6,09, | N 6,51, | |
| | Gef. „ 72,29, | „ 6,19, | „ 6,54. | |

**Abbau des d, l-Naphthalanins durch Proteusbakterien.**

Die Arbeitsmethode war dieselbe wie für die vorangehende Mitteilung mit l-Tryptophan. Die Verweildauer im Brutschrank 40 Tage.

5 Kolben mit je 2 g Substanz, d. h. im ganzen 10 g α-Naphtalanin, wurden aufgearbeitet. Nach der Konstatierung der bakteriologischen Reinheit wurde das Gesamtgemisch unter vermindertem Druck abdestilliert, der Rückstand sodann mit Al-

kohol erschöpfend extrahiert. Vom Auszug wurde der Alkohol abdestilliert und der Rückstand von neuem in Wasser aufgelöst. Die wässerige Lösung wurde nach Ansäuren mit Phosphorsäure mit Äther extrahiert. Der mit wasserfreiem Glaubersalz getrocknete Ätherextrakt wurde nach dem Abdestillieren des Äthers im Vakuumexsiccator über Natronkalk stehen gelassen. Nach 3 Tagen wurden die ausgeschiedenen Krystallnadeln auf eine Tonplatte gestrichen. Die rohe Substanz schmolz bei 138—140° C.

Die Substanz wurde aus siedendem Wasser umkrystallisiert. Die farblose nadelförmige Substanz schmolz bei 142° C (korr.). Nach erneuter Umkrystallisation blieb der Schmelzpunkt unverändert.

Zur Analyse wurde die Substanz im Vakuum bei 100° getrocknet und erwies sich dabei als krystallwasserfrei.

0,1212 g Subst.: $CO_2$ 0,3196 g, $H_2O$ 0,0611 g,
$C_{13}H_{12}O_3$. Ber. C 72,19, H 5,60,
Gef. „ 71,92, „ 5,64.

Die optische Bestimmung wurde mit der alkoholischen Lösung ausgeführt:

0,5677 g Subst., gelöst mit abs. Alkohol zu 15 ccm, mithin C = 3,7847, drehten bei 13° im 1-Dezimeterrohr bei Natriumlicht 0,92° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{13} = +24,31°.$$

# Über die sekretionserregende Wirkung der salzsauren Aminosäuren auf das Pankreas.

Von

**M. Arai.**

(Aus dem Sasaki-Laboratorium im Kyoundohospital zu Tokio.)

*(Eingegangen am 5. Juni 1921.)*

Es ist eine allgemein bekannte Tatsache, daß die Pankreassekretion durch die direkte Einführung von freier Salzsäure in das Duodenum lebhaft angeregt wird. Da die in dem Magen sezernierte Salzsäure teils durch den eindringenden Darmsaft neutralisiert[1]), teils infolge der Bindung an Eiweißkörper und deren Verdauungsprodukte gedämpft wird, gelangt sie also größtenteils im gebundenen Zustande ins Duodenum. Das mit einem starken Kation durch Neutralisation entstandene Salz, so hauptsächlich Kochsalz, ist nicht mehr zur physiologischen Anregung zur Pankreassekretion befähigt. Nun kommt dazu nur die mit Eiweißkörpern resp. ihren Abbauprodukten salzartig verbundene Salzsäure in Betracht. Neben der freien Salzsäure, die normalerweise in einer für die Duodenalschleimhaut erträglichen, schwachen Konzentration mit dem Chymus in das Duodenum einfließt und sofort reflektorisch den Pylorusschluß verursacht, spielt diese gebundene Salzsäure wahrscheinlich auch eine große Rolle für die Anregung der Pankreassekretion. Diese theoretische Überlegung experimentell zu prüfen, habe ich auf Anregung von Prof. Takaoki Sasaki die folgende Untersuchung ausgeführt.

Da die genau entsprechende Salzsäuremenge für Eiweißkörper und ihre nächsten Spaltprodukte sich heutzutage noch schwerlich exakt berechnen läßt, wurde die Untersuchung mit den Aminosäuren und den Polypeptiden ausgeführt, woraus man auch auf die Wirkungen der salzsauren Salze komplizierter gebauter Eiweißkörper zu schließen vermag.

[1]) Boldyreff, Ergebn. d. Physiol. **11**, 121. 1912.

Hunden mit temporären Pankreasfisteln wurden 5—10 ccm wässerige Lösung des salzsauren Salzes des Glykokolls, des d-Alanins, der d-Glutaminsäure und des Glycylglycins, in einer Konzentration von $1-\frac{1}{10}$ g Mol ins Duodenum eingespritzt. Bald tritt die lebhafte Pankreassekretion auf, welche eine halbe bis eine Stunde andauert. Dagegen zeigte Histidinmonochlorhydrat und d-Glucosaminchlorhydrat ceteris paribus keine sekretionerregende Wirkung. Statt der direkten Einführung in das Duodenum intravenös oder subcutan verabreicht erwiesen sich alle untersuchte Substanzen als wirkungslos.

A. Frouin[1]) hat mitgeteilt, daß Glykokoll, Alanin, Tyrosin, Asparagin, Asparagin- und Glutaminsäure die Pankreassekretion fördern, wenn sie enteral verabreicht werden, während bei der intravenösen Einverleibung diese Wirkung ausbleibt. Ich konnte aber bei Glykokoll, d-Alanin und d-Glutaminsäure keine fördernden Effekte bei der enteralen Applizierung konstatieren und somit seine Angabe nicht bestätigen.

Endlich habe ich einige Versuche über die pharmakologische Beeinflussung der durch die salzsauren Aminosäuren hervorgerufenen Pankreassekretion ausgeführt. Wenn man nach einer subcutanen Injektion von Adrenalin die salzsauren Aminosäuren enteral einverleibt oder umgekehrt zuerst die salzsauren Aminosäuren ins Duodenum eingießt und darauf Adrenalin intravenös oder subcutan einspritzt, so war die Hemmung der Pankreassekretion deutlich bemerkbar, was als eine Folge der Gefäßwirkung von Adrenalin nicht befremdlich ist. Bei der Atropininjektion war kein Einfluß zu konstatieren.

Durch die Versuche ist es exakt experimentell bewiesen, daß die Salzsäure als Aminosäuresalz oder Peptidsalz von der Duodenalschleimhaut aus auch wie bei den im freien Zustande direkt eingeführten Versuchen Pankreassekretion anzuregen, oder nach einer heute meist anerkannten Hypothese Prosekretin zu aktivieren vermag.

## Experimenteller Teil.

Die Versuche wurden sämtlich an Hunden ausgeführt, die wenigstens 24 Stunden lang gehungert hatten. Unter Misch-

---

[1]) A. Frouin, Cpt. rend. la soc. de biol. 74, 131. 1913.

narkose mit Äther und Chloroform oder Äther, Chloroform und Alkohol wurde ihnen eine temporäre Pankreasfistel angelegt und eine dünne Glaskanüle in den Pankreasausführungsgang eingeführt. Die Tropfenzahl des herausfließenden Saftes wurde für jedes Zeitintervall gezählt, seine Gesamtmenge zuletzt notiert.

### I. Versuchsreihe.

**Die Einführung von salzsauren Aminosäuren in das Duodenum.**

Aus der Laparotomiewunde wurde das Duodenum herausgezogen. Die Lösungen der salzsauren Aminosäuren wurden mittels einer Injektionsspritze durch die Darmwand in das Duodenallumen eingebracht. Zum Versuche wurden benutzt:

A. d-Glutaminsäurechlorhydrat, B. Glykokollchlorhydrat, C. d-Alaninchlorhydrat, D. Glycylglycinchlorhydrat.

Tabelle I enthält die Ergebnisse der Untersuchung.

Tabelle I.

| Substanz | Konzentration | Menge | Körpergewicht | Geschlecht | Zeit bis zum Auftreten des ersten Tropfens nach der Injektion in Min. | Tropfenzahl des Pankreassaftes in bestimmten Zeitintervallen nach dem Auftreten des ersten Tropfens | | | | | | | | | | | | | | | | Saftmenge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mol | ccm | g | | | 5′ | 10′ | 15′ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 40′ | 45′ | 50′ | 55′ | 60′ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | ccm |
| d-Glutaminsäurechlorhydrat | 1 | 10 | 13800 | ♀ | 7 | — | 8 | — | 13 | 9 | 9 | 10 | 10 | 25 | 25 | 10 | 10 | 4 | 3 | 1 | 1 | 3,7 |
| " | 1/2 | 12 | 13300 | ♀ | 8 | 36 | 36 | 29 | 29 | 22 | 22 | 8 | 8 | 1 | 1 | 4 | 4 | 2 | — | — | — | 3,0 |
| " | 1/2 | 5,4 | 7500 | ♀ | 4 | 26 | 9 | 14 | 4 | 2 | 5 | 5 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| " | 1/10 | 20 | 13800 | ♀ | 22 | — | 3 | 3 | 3 | 1 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 0,2 |
| " | 1/5 | 10 | 19800 | ♂ | 7 | 133 | 106 | 43 | 11 | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 10,4 |
| Glykokollchlorhydrat | 1 | 5 | 7850 | ♀ | 10 | 6 | 5 | 2 | 1 | 1 | — | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 0,5 |
| " | 1 | 10 | 7850 | ♀ | 6 | 25 | 22 | 22 | 19 | 10 | 6 | 3 | — | 2 | 2 | 2 | 2 | — | — | — | — | 4,5 |
| d-Alaninchlorhydrat | 1 | 10 | 13800 | ♀ | 16 | 5 | 9 | 10 | 8 | 5 | 2 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 1,6 |
| " | 1/2 | 10 | 7100 | ♂ | 5 | 2 | 2 | 2 | 1 | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Glycylglycinchlorhydrat | 1 | 7 | 13300 | ♀ | 19 | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 5 | 5 | 6 | 6 | 4 | 1 | — | — | 0,8 |
| " | 1 | 3 | 13300 | ♀ | 6 | 4 | 4 | 9 | 9 | 10 | 10 | 12 | 12 | 5 | 5 | 2 | 2 | 2 | — | — | — | 1,3 |

## II. Versuchsreihe.

## Einfluß von Adrenalin und Atropin auf die Pankreassekretion, die durch die salzsauren Aminosäuren hervorgerufen ist.

### A. Atropin.

1. Hund Nr. 14. 12200 g, ♂, erhielt 5 ccm $^1/_2$-Mol-Lösung von d-Alaninchlorhydrat in das Duodenum eingespritzt. Nach 3 Minuten begann die Pankreassekretion und nach weiteren 6 Minuten flossen schon 10 Tropfen heraus, 0,5 ccm 0,1 proz. schwefelsaures Atropin wurden jetzt intravenös verabreicht. Der weitere Sekretionszustand ist in Tabelle II dargestellt.

Tabelle II.

| Zeit (Min.) . . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . . | 7 | 4 | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 |

Saftmenge nach der Atropininjektion 1,2 ccm.

2. Hund Nr. 17. 13000 g, ♀, bekam 10 ccm $^1/_2$-Mol-d-Alaninchlorhydrat in das Duodenum eingespritzt. Nach 5 Minuten begann die Sekretion und in den nächsten 3 Minuten wurden 9 Tropfen sezerniert. 1 ccm einer 0,1 proz. Lösung von Atropinum sulfuricum wurde sofort intravenös verabfolgt. Das weitere Sekretionsverhalten ist aus Tabelle III ersichtlich.

Tabelle III.

| Zeit (Min.) . . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . | 13 | 6 | 4 | 4 | 3 | 1 |

Saftmenge nach der Atropininjektion 1,4 ccm.

3. Hund Nr. 19. 13450 g, ♂. Zuerst wurde 1 ccm 0,1 proz. Lösung von Atropinum sulfuricum subcutan und erst nach 12 Minuten 10 ccm $^1/_2$-Mol-d-Alaninchlorhydrat ins Duodenum eingespritzt. Nach 2 Minuten hat die Sekretion begonnen. Die Verhältnisse der Sekretion sind aus Tabelle IV zu entnehmen.

Tabelle IV.

| Zeit (Min.) . . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . . | 34 | 45 | 31 | 16 | 6 | 3 | 1 | 0 | 1 |

Saftmenge 4,7 ccm.

4. Hund Nr. 18. 19800 g, ♂, erhielt zuerst subcutan 1 ccm 0,1 proz. Lösung von Atropinum sulfuricum und 2 Minuten darauf 10 ccm $^1/_2$-Mol-d-Glutaminsäurechlorhydrat ins Duodenum.. Nach 9 Minuten begann die Sekretion und dauerte an, wie es aus Tabelle V ersichtlich ist.

Tabelle V.

| Zeit (Min.) . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . | 13 | 25 | 19 | 10 | 6 | 3 |

Saftmenge 2,7 ccm.

Aus diesen Versuchen darf man schließen, daß Atropinum sulfuricum keinen Einfluß auf die Pankreassekretion hat, die durch salzsaure Aminosäuren hervorgerufen ist.

### B. Adrenalin.

1. Hund Nr. 17: 13000 g, ♀. 10 ccm $^1/_2$-Mol-Lösung von d-Alaninchlorhydrat ins Duodenum und 2 Minuten darauf 1 ccm 0,1 proz. Adrenalinchlorhydratlösung in V. femoralis eingespritzt. Pankreassaft wurde dabei überhaupt gar nicht sezerniert.

2. Hund Nr. 18, 19 800 g, ♂, erhielt zuerst subcutan 1 ccm 0,1 proz. Adrenalinchlorhydratlösung und 2 Minuten darauf 10 ccm $^1/_2$-Mol-d-Glutaminsäurechlorhydrat in das Duodenum eingespritzt. Pankreassaft wurde auch hierbei gar nicht sezerniert.

3. Hund Nr. 19. 13 450 g, ♂. Zuerst 1 ccm 0,1 proz. Lösung von Adrenalinchlorhydrat subcutan. Erst nach 11 Minuten 10 ccm $^1/_2$-Mol-Lösung von d-Alaninchlorhydrat ins Duodenum eingespritzt. 2 Minuten danach begann die Pankreassekretion.

Tabelle VI.

| Zeit (Min.) . . . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . . | 3 | 5 | 5 | 4 | 2 | 2 | 1 |

4. Hund Nr. 14. 12 200 g, ♂, bekam zuerst 10 ccm $^1/_2$-Mol-d-Glutaminsäurechlorhydratlösung ins Duodenum eingespritzt. Die Pankreassekretion begann sofort. 10 Tropfen flossen in 10 Minuten heraus. Zu diesem Zeitpunkte wurde 0,5 ccm 0,1 proz. Lösung von Adrenalinchlorhydrat in die V. femoralis eingespritzt. Tabelle VII stellt den weiteren Sekretionszustand dar.

Tabelle VII.

| Zeit (Min.) . . | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50 | 55 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Tropfenzahl . | 0 | 12 | 2 | 4 | 7 | 0 | 4 | 4 | 8 | 6 | 2 |

Nach diesen Untersuchungsergebnissen wirkt Adrenalin hemmend auf die Pankreassekretion, die durch salzsaure Aminosäuren hervorgerufen wird. In eklatanten Fällen wird die Sekretion gänzlich unterdrückt. In nicht so auffallend wirkenden Beispielen ist die hemmende Wirkung schwerlich zu erkennen, da die sekretionsanregende Wirkung der betreffenden Substanz individuell verschieden ist.

# Zur Chemie der Wassermannreaktion.

Von

**J. Forssman.**

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

*(Eingegangen am 6. Juni 1921.)*

Der Zweck dieser im Anfang 1917 begonnenen Untersuchung war, diejenige Substanz, welche die positive Wassermannreaktion[1]) bedingt, möglichst zu isolieren, zu reinigen und im glücklichsten Falle rein darzustellen. Denn mag man auch zugeben, daß die Komplementfixation das Resultat einer Änderung der Dispersität ist, so müßte doch für die Dispersitätsänderung entweder eine neue Substanz oder eine quantitative Verschiebung der schon vorhandenen Substanzen vorausgesetzt werden.

Als ich mit meiner Arbeit begann, war nur eine einzige Tatsache in bezug auf die chemischen Eigenschaften der fraglichen Substanz[2]) bekannt — wenigstens schien es mir so —, diejenige nämlich, daß der Körper sich in der Globulinfällung befindet. Mein erster Schritt war demnach, die Substanz mit den Globulinen aus positiven Sera auszufällen, um sie in der Weise von allen übrigen beigemengten Stoffen möglichst zu reinigen.

## Dialyseversuche.

Um die Globuline und die WaS auszufällen, benutzte ich anfangs das Dialysierverfahren. Die Dialyseschläuche waren aus Collodium und wurden von mir selbst verfertigt.

Ein gewöhnliches Probierröhrchen wird hierfür in eine 4 proz. Collodiumlösung hineingetaucht; nach dem Herausnehmen läßt man die Collodium-

---

[1]) Die in dieser Arbeit vorkommenden Wassermannreaktionen sind mit der Boasschen Modifikation und zwar mit Austitrierung der untersuchten Flüssigkeiten betreffs der Minimumdosis, die positive Reaktion gibt, ausgeführt worden. — Nur **stark** wassermannpositive Seren sind für diese Untersuchung benutzt.

[2]) Sie wird nachstehend als WaS bezeichnet.

haut ein wenig eintrocknen und wiederholt dieselbe Prozedur noch 2 mal. Nun zieht man den so gebildeten Fingerhut vom Glasröhrchen ab und legt ihn für einige Stunden in Wasser, wo er fester wird, um später auf ein abgeschnittenes Probierröhrchen befestigt zu werden in der Weise, daß das Glasröhrchen das Mundstück des Collodiumschlauches bildet. Der Collodiumschlauch wird mit Wasser gefüllt, in das Glasröhrchen ein Wattepfropfen gesetzt, wonach das ganze bei 115° C 20 Minuten im Autoklaven erwärmt wird. Hierbei muß der Collodiumteil ins Wasser versenkt sein, um nicht zu schrumpfen. Wenn nun das Wasser im Schlauche mit einer sterilen Pipette aufgesogen und das zur Fällung bestimmte Serum eingefüllt wird, so kann die Dialyse steril beliebige Zeit fortgesetzt werden.

So verfertigte Schläuche sind, obgleich sie möglichst in derselben Weise, aus derselben Collodiumlösung und in derselben Sitzung hergestellt sind, doch nicht alle gleich. Bereitete ich z. B. 12 Schläuche unter den eben erwähnten Umständen, füllte jeden mit 0,6 ccm desselben Serums und dialysierte gegen große Mengen destilliertes Wasser während 40 Stunden, so zeigte es sich, daß in einem Versuche die Flüssigkeitsmengen in den Röhrchen von 2,4 ccm bis 4 ccm und gleichzeitig auch in bezug auf ihre WaR wechselten, doch nicht so, daß mit ein wenig veränderter Flüssigkeitsmenge auch die WaR sich regelmäßig änderte.

Das Arbeiten mit diesen Collodiumschläuchen wird noch dadurch beeinträchtigt, daß eine Collodiumlösung mit dem Altern sich verändert und daß gleichstarke Collodiumlösungen nicht immer gleichwertige Dialysemembrane geben, obzwar die Lösungen noch mit der größten Gewissenhaft in gleicher Weise und sogar von demselben Chemiker aus denselben Stoffen gemacht wurden; das habe ich während dieser meiner Untersuchungen erfahren.

Nur solche Schläuche, in denen nach einer Dialyse gegen destilliertes Wasser innerhalb 40 Stunden eine kräftige Fällung im Serum eintritt, habe ich als anwendbar erachtet. Collodiumlösungen, die anfangs schlechte Schläuche gaben, konnten indessen durch Zusätze von kleinen, für jede Lösung auszuprobierenden Mengen 95% Alkohols in dieser Beziehung verbessert werden.

Die Schwierigkeiten, die aus den eben berichteten Umständen für die Arbeit entstanden, waren doch so erheblich, daß ich nach einer Zeit mich entschloß, diesen Weg, die Globuline aus den Sera auszufällen, zu verlassen.

Mehr als 60 verschiedene luetische und normale Sera waren jedoch mit dem Dialyseverfahren untersucht worden, und da hier-

bei wertvolle Fingerzeige betreffs der Natur der WaS erhalten wurden, möchte ich darüber kurz berichten.

Alle Dialysen wurden gegen große Mengen destilliertes Wasser bei Zimmertemperatur ausgeführt und 40 Stunden lang fortgesetzt. In dieser Zeit wuchs der Inhalt jedes Schlauches um mindestens 2,25 bis höchstens 10 mal des ursprünglichen Volumens an. Der dann gut umgeschüttelte Inhalt wurde kräftig zentrifugiert, bis die Flüssigkeit vollkommen klar wurde.

Für die Wassermannprobe löste ich die erhaltenen Bodensätze in einer der dialysierten Serumquantität entsprechenden Menge Salz- und Sodalösung (mit 0,8% NaCl und 0,1% $Na_2CO_3$); dann wurde die WaR ohne Inaktivieren mit diesen Bodensatzlösungen, wo nicht das Gegenteil besonders gesagt wird, angestellt.

Die klaren, über die Bodensätze stehenden Flüssigkeiten wurden anfangs sowohl mit einem Kochsalzzusatz von 0,8%, als ohne diesen Zusatz betreffs der Fähigkeit geprüft, die Reaktion zu geben. Da das Kochsalz aber keine Bedeutung hatte, wurde das Kochsalz später weggelassen. Auch die Flüssigkeiten sind ohne vorhergehende Inaktivierung untersucht.

Folgende Resultate sind nun aus diesen Versuchen hervorgegangen:

Von 35 positiven, aktiven oder inaktiven Seren wurden ausnahmslos positive Bodensätze gewonnen. Einige der Bodensätze, die aus positiven aktiven Sera stammten, waren indessen auch selbsthemmend. Die Dialyseflüssigkeiten derselben Sera zeigten dagegen in der Regel negative WaR, was somit beweist, daß die WaS vollständig durch Dialyse aus den positiven Sera ausgefällt werden kann; also eine Bestätigung unserer jetzigen Auffassung. Ich konnte auch die WaS quantitativ im Bodensatz wiederfinden; war das Serum in Dosis von 0,01 ccm positiv, so gab demnach auch der der Bodensatz positive WaR in derselben Dosis. In einzelnen Dialyseversuchen erhielt ich allerdings auch positive Reaktion mit der Flüssigkeit; das zeigt aber nur, daß da die Dialyse nicht gut verlaufen war.

Daß die bei der Dialyse von einem positiven Serum nach dem Zentrifugieren des Schlauchinhaltes erhaltene helle Flüssigkeit negativ reagiert, könnte auf den ersten Blick allein auf die Verdünnung des ursprünglichen Inhaltes zurückgeführt werden.

Dies ist aber unmöglich; denn teils habe ich für diese Versuche nur so stark positive Sera benutzt, daß sie auch 10fach verdünnt doch in Dosis von 0,2 ccm positiv reagieren mußten, teils habe ich die hierzu benutzten Sera in derselben Proportion, wie sie bei der Dialyse verdünnt wurden, mit 0,8% NaCl-Lösung verdünnt und festgestellt, daß sie auch dabei tatsächlich positiv reagierten. Die negative Reaktion einer solchen hellen Dialyseflüssigkeit wird selbstverständlich nicht durch den Kochsalzzusatz von 0,8% geändert; brachte ich dagegen eine mit Kochsalz versetzte Dialyseflüssigkeit zusammen mit dem Bodensatz aus einem positiven Serum, so löste sich der Bodensatz schnell und die so erhaltene Lösung war gleichstark positiv.

Die negativen Sera verhielten sich bei der Dialyse folgendermaßen: Die inaktiven negativen Sera gaben in der Regel negative Bodensätze. Aber man sieht auch solche Sera, welche schwach positiv reagierende Bodensätze geben. Die Flüssigkeiten sind dagegen immer negativ. Die aktiven negativen Sera verhalten sich vollkommen wie die aktiven positiven Sera, was auch nicht verwundern kann, da jene nicht selten auch stark positiv reagieren. Negative Sera, die in aktivem Zustande bei der Dosis von z. B. 0,01 positiv reagieren, sind ja gar nicht selten. Die einzige Verschiedenheit, die zwischen den aktiv positiven und den aktiv negativen Sera in diesem Punkte vorkommt, ist, daß die Bodensätze aus diesen Sera im allgemeinen, aber nicht immer, beim Inaktivieren negativ werden, was nicht der Fall mit jenen ist, obgleich auch sie durch das Inaktivieren ein wenig abgeschwächt werden, ganz so wie es mit den aktiven positiven Sera sich verhält.

Die Bodensätze aus den verschiedenen, dialysierten Sera lösten sich gleich schnell und vollkommen in der Salz- und Sodalösung, die, wie oben erwähnt, zur Lösung der Bodensätze angewandt wurde, wie in eine verdünnte Säure, z. B. eine Salzsäure von 0,18% oder eine Essigsäure von 1 : 2000 bis 1 : 5000. Mitunter waren die erhaltenen Lösungen opalescierend, zu allermeist jedoch vollkommen wasserhell.

Ungelöste Bodensätze von positiven Sera behandelte ich nun auch in verschiedenen Weisen, um möglicherweise eine Reinigung der WaS zu erzielen. Da die Ergebnisse dieser Versuche

mit denjenigen zusammenfallen, die ich bei Behandlung der durch Fällung erhaltenen Bodensätze (siehe später!) bekommen habe, werde ich sie erst im Zusammenhang mit jenen Ergebnissen besprechen. Nur eins möchte ich schon jetzt hervorheben, nämlich die Resultate der Behandlung der Bodensätze mit 0,8% NaCl-Lösung. Im allgemeinen lösten sich die Bodensätze vollkommen in dieser Kochsalzlösung; mitunter jedoch nicht ganz vollständig. Es ist ja bekannt, daß Globuline, wenn sie unter destilliertem Wasser stehen, ihre Löslichkeit in Kochsalzlösung einbüßen. Dabei reagierten, wenn die Bodensätze aus stark positiven Sera stammten, sowohl die Lösung wie der ungelöste Rest, der später in Salz- und Sodalösung sich schnell löste, positiv. Ich erhielt aber einmal aus einer Collodiumlösung Schläuche, welche Bodensätze mit anderen Eigenschaften lieferten. Die aus diesen Schläuchen erhaltenen Bodensätze aus positiven Sera lösten sich nämlich allerdings zum größten Teil in Kochsalzlösung, aber die so erhaltene Lösung reagierte komplett negativ, während in jenem sehr kleinen Rest, der sich spielend leicht in Salz- und Sodalösung löste, die WaS quantitativ wiedergefunden wurde. In einem Versuche wurde z. B. jeder von 6 Dialysierschläuchen mit 0,6 ccm positiven inaktiven Serum, das in Dosis von 0,01 ccm positiv reagierte, beschickt und gegen destilliertes Wasser 40 Stunden lang dialysiert; der Inhalt aller Schläuche wurde zusammengegossen, in sechs gleiche Teile geteilt, diese zentrifugiert, die oben stehenden Flüssigkeiten abgehoben, jeder von zwei Bodensätzen in 0,6 ccm Salz- und Sodalösung gelöst, jeder von zwei anderen mit je 8 ccm 0,8 proz. Salzlösung behandelt, worin sich alles, mit Ausnahme eines winzigen Überbleibsels, löste; dieser Rest löste sich schnell in 0,6 ccm Salz- und Sodalösung. Bei der Wassermannprobe verhielten sich nun die verschiedenen Flüssigkeiten in folgender Weise: Die Dialyseflüssigkeit negativ, die in Salz- und Sodalösung gelösten Bodensätze positiv in Dosis von 0,01 ccm, die Salzlösung negativ, und endlich die in Salz und Soda gelösten Reste nach der Salzbehandlung positiv bis hinab zu 0,01 ccm. Selbstverständlich habe ich durch Kontrollen mich davon überzeugt, daß die benutzte Salz- und die Salz- und Sodalösung allein nicht die geringste WaR gaben.

Hierdurch sah ich einen Beweis dafür, daß die WaS allerdings zusammen mit der Globulinen fällt,

daß sie aber nicht zu den Globulinen gehört, sondern von diesen verschieden ist und bei deren Ausfällung nur mechanisch mitgerissen wird.

Ich wiederholte diese Versuche mehrmals, und immer mit demselben Resultate, solange ich die gleiche Collodiumlösung hatte und diese in meiner Hand nicht älter als ein Monat war. (Wie alt die Lösung tatsächlich war, darüber kann ich nichts aussagen. Sie war aus einer hiesigen Apotheke bezogen, aber in einer Schießpulverfabrik bereitet.) Wenn die Lösung alterte, wurden in den damit bereiteten Schläuchen die Bodensätze in Beziehung zu Kochsalzlösung mit den zuerst erwähnten Bodensätzen ganz übereinstimmend, d. h. sie lösten sich vollkommen darin, wenn sie nicht zu lange in Berührung mit destilliertem Wasser gewesen waren. Trotz dem größten Entgegenkommen der Skånska Schießpulverfabrik, in Landskrona, Schweden, aus der die Collodiumlösung stammte, war es aber nicht möglich, eine zweite Collodiumlösung mit denselben Dialyseeigenschaften zu erhalten.

## Verdünnungsversuche.

Ausgehend von den oben stehenden Dialyseversuchen habe ich auch geprüft, inwieweit solche Sera, die inaktiviert negativ reagieren, in aktivem Zustande durch Zusatz von destilliertem Wasser eine positivet Reakion annehmen können, wie Hirschfeld und Klinger[1]) es behaupten. Inzwischen ist aber eine sehr gründliche Arbeit von Nathan[2]) erschienen, der die Angaben von Hirschfeld und Klinger nachgeprüft, zum Teil bestätigt und erweitert hat. Ich will mich deswegen betreffs des Resultats der Verdünnung von Seren sehr kurz fassen.

Ich möchte dabei doch bemerken, daß Sera, welche inaktiv negativ sind, nicht selten aktiv positive Reaktion sogar in Dosis von 0,01 ccm geben und mitunter sich auch so verhalten, daß sie in Dosis von 0,2 ccm negativ reagieren, aber in 0,01 ccm positiv sind, welches letztgenanntes Verhalten von einem großen Komplementgehalt des Serums zweifelsohne herrührt. Verdünnt man nun solche Sera, so können zwar die Verdünnungen sehr weit getrieben werden und doch die Sera in

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 21.
[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 27.

Dosen von 0,2 ccm positiv reagieren, ohne daß man für die positive Reaktion der verdünnten Sera Veränderungen der Dispersität verantwortlich machen muß. Übrigens kann ich Nathan vollauf beistimmen, wenn er sagt, „daß fast jedes normale Serum bei bestimmten Verdünnungsgraden wassermannpositiv oder eigenhemmend werden kann“. Daß die Sera hierbei sich individuell sehr verschieden verhalten, wie die genannten Autoren erwähnen, ist das erste, was man bei solchen Versuchen erfährt.

Nathan und ebenso Klinger und Hirschfeld haben die durch Verdünnen, durch Schütteln und durch verschiedene Suspensionen experimentell positiv gemachten Sera auch nach Inaktivierung geprüft. Hierüber sagt Nathan, daß „die durch die erwähnten Eingriffe experimentell hervorgerufene positive WaR sich in Übereinstimmung mit den Angaben von Klinger und Hirschfeld als thermolabil erwies; sie wurde durch Erwärmen des umgewandelten Serums auf 45—55° wieder zerstört. Eine Ausnahme bildete nur die durch Bakteriensuspensionen bewirkte Serumveränderung.“ Die Angaben von Hirschfeld und Klinger sind nicht ganz korrekt wiedergegeben; denn die genannten Verfasser haben allerdings gefunden, daß die durch Verdünnung und Schütteln positiv gemachten Sera im allgemeinen thermolabil sind, aber auch daß sie, wenn die Sera längere Zeit oder bei stärkerer Verdünnung geschüttelt wurden, thermostabil sein könnten (siehe die Versuche 9, 10, 12 und 13 in der Arbeit von Hirschfeld und Klinger). Die prinzipielle Verschiedenheit in bezug auf die Thermoresistenz zwischen den wirklichen und den experimentellen wassermannpositiv gemachten Seren, so wie Nathan es hervorhebt, kommt demnach nicht vor. Und ich möchte nach meinen Verdünnungsversuchen hier nur sagen, daß ich Hirschfeld und Klinger darin zustimmen muß, daß also in der Regel die durch Verdünnung wassermannpositiv gemachten Sera thermolabil sind, aber in Ausnahmefällen auch thermostabil sein können, ganz so wie es mit den durch Dialyse von aktiven, negativen Sera erhaltenen Bodensätzen sich verhält, worüber schon oben berichtet worden ist.

## Fällungsverfahren.

Da ich das Dialyseverfahren aus den oben erwähnten Gründen verließ, wandte ich mich einem Fällungsverfahren zu, um auf sichere und bequeme Weise die Globuline und die WaS aus den Seren herauszuholen. Von den für diesen Zweck schon angewandten Methoden schien mir die Fällung mit kohlensäurehaltigem Wasser nach Landsteiner und Müller nicht empfehlenswert, da der Kohlensäuregehalt schwer dosierbar ist; das Fällen mit Ammoniumsulfat (Friedmann) bedingt eine nachträgliche Dialyse, um den gelösten Bodensatz vom Ammonium-

sulfat zu befreien, was vielleicht sekundäre Veränderungen des Bodensatzes bewirken kann. Ich wählte deswegen die einfache Globulinfällung mit Essigsäure und destilliertem Wasser. Hierbei verhalten sich die Sera individuell sehr verschieden, indem bei einigen die Fällung schon nach einer äußerst geringen Ansäuerung bei dem Wasserzusatz auftritt, während andere hierfür mehr Säure erfordern. Der Wasserzusatz war immer 10 ccm pro 1 ccm Serum, und zur Ansäuerung benutzte ich eine 2proz. Essigsäure, wovon ich von 0,03 bis 0,17 ccm pro 1 ccm Serum hinzufügte.

Die erhaltenen Bodensätze lösten sich schnell und vollkommen sowohl in 0,8proz. NaCl-Lösung, als in einer Lösung, die dazu noch 0,1% Soda enthielt wie in 1 : 5000 Essigsäure. Im allgemeinen waren die Lösungen vollkommen klar, mitunter jedoch ein wenig opalescent, ohne daß dadurch deren WaR beeinflußt wurde, sodaß solche opalescente Lösungen ebensowohl positiv wie negativ reagieren konnten.

Für die Wassermannproben löste ich in der Regel die Bodensätze in einer der gefällten Serummenge entsprechenden Quantität der mehrmals erwähnten Salz- und Sodalösung, obgleich die WaR sich ebensogut mit den Bodensätzen, welche nur in Kochsalzlösung oder 1 : 2000 bis 1 : 5000 Essigsäure gelöst werden, ausführen ließ.

Ob man beim Fällen zuerst die Säure und dann das Wasser dem Serum zufügt oder umgekehrt, ist für den späteren Ausfall der WaR einerlei. Hat man also anfangs zu wenig Säure zugesetzt, so daß keine Fällung auf Wasserzusatz eintritt, so kann man ruhig nachher die genügende Säuremenge zugeben. Entsteht gleich, nachdem die Säure und das Wasser zugesetzt sind, eine schwache Fällung, die, wenn die Flüssigkeit eine halbe Stunde steht, grobkörnig wird, so ist die zugesetzte Säuremenge im allgemeinen hinreichend, um die WaS quantitativ oder beinahe quantitativ auszufällen. Setzt man mehr Säure zu, so wird die Fällung allmählich geringer, und parallel mit der Fällung verkleinert sich oder verschwindet auch die WaR des Bodensatzes. Wie dies sich abspielt, möchte ich mit einem Versuche veranschaulichen.

4 positive Sera, K, W, N und J, die alle aktiv in Dosis von 0,01 ccm, in inaktiver Form in Dosis von 0,03 ccm positiv reagierten und 2 negative

Sera, die sowohl aktiv wie inaktiviert negativ waren, wurden teils **aktiv**, teils **inaktiviert** mit den in untenstehender Tabelle I angegebenen, wechselnden Mengen 2 proz. Essigsäure und 10 ccm destilliertem Wasser pro Kubikzentimeter Serum gefällt; die nach Zentrifugieren erhaltenen Bodensätze wurden jeweils in den gefällten Serummengen entsprechenden Quanten der Salz- und Sodalösung gelöst und sodann die WaR angestellt.

Da die Sera K, W und N sich hierbei in jeder Beziehung ganz übereinstimmend verhielten und dies auch der Fall mit den beiden negativen Sera war, so kann ich mich darauf beschränken, die Resultate von nur einem dieser positiven Sera, K, nebst dem positiven Serum J und von nur einem negativen Serum, D, in der Tabelle I anzuführen.

## Tabelle I.

Die verschiedenen, behandelten Serumproben sind numeriert, um die tabellarische Übersicht der WaR zu erleichtern. Positive WaR wird mit +, negative mit — bezeichnet. Die nach der „Essigsäure" in der ersten Reihe der Tabelle stehenden Ziffern geben die zugesetzten Kubikzentimeter Essigsäuremengen pro Kubikzentimeter Serum an.

| | Essigsäure | 0,05 | 0,10 | 0,12 | 0,15 | 0,20 | | 0,05 | 0,10 | 0,12 | 0,15 | 0,20 ccm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Aktive Sera | Ser. K | 1 | 2 | 3 | | | Inaktive Sera | 4 | 5 | 6 | | |
| | „ J | 7 | 8 | | 9 | 10 | | 11 | 12 | | 13 | 14 |
| | „ D | 15 | 16 | 17 | | | | 18 | 19 | 20 | | |

Die WaR wurde mit folgenden Dosen dieser Lösungen gemacht:

| | Bodensatzlösung | | | | | Kontr. ohne Antigen | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0,2 | 0,1 | 0,03 | 0,01 | 0,003 ccm | 0,2 | 0,1 | 0,01 ccm |
| 1. | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2. | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 3. | + | + | + | + | — | — | — | — |
| 4. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 5. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 6. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 7. | + | + | + | + | — | + | + | — |
| 8. | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 9. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 10. | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 11. | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 12. | + | + | + | — | — | — | — | — |
| 13. | + | — | — | — | — | — | — | — |
| 14. | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 15. | + | + | + | + | — | + | | + |
| 16. | + | + | + | + | — | + | | + |
| 17. | + | + | — | — | — | — | | — |
| 18. | — | — | — | — | — | — | | — |
| 19. | — | — | — | — | — | — | | — |
| 20. | — | — | — | — | — | — | | — |

Wenn die aus aktiven Seren stammenden Bodensatzlösungen vor dem Anstellen der WaR inaktiviert wurden, gaben sie im allgemeinen vollkommen dieselben Ergebnisse wie diejenigen Bodensatzlösungen, die von denselben Sera in inaktiviertem Zustande herrührten; doch kommt es vor, daß dasselbe Serum aktiv und inaktiv verschiedene Säuremengen erfordert, um seine Wassermannsubstanz an die Fällung abzugeben. Ein Beispiel hierfür wird unten in Tabelle III angeführt, worauf hier verwiesen sei.

Ich habe schon oben hervorgehoben, wie individuell sich die Sera bei dieser Fällungsmethode verhalten, daß man viel mehr Säure bei dem einen als bei dem anderen anwenden muß, um die WaS auszufällen. Dies wird sehr gut durch einen Vergleich zwischen den positiven Seren K und J veranschaulicht. Beim aktiven Serum K wird die maximale Ausfällung schon durch 0,05 ccm Essigsäure erreicht (1), um schon nach einem Säurezusatz von 0,10 ccm heruntergehen (2), während die erstgenannte Säuremenge bei Serum J bei weitem nicht die höchste Ausbeute gibt (7), die hier erst mit 0,10 ccm erzielt wird (8). Die Verhältnisse liegen also gerade umgekehrt wie beim Serum K. Auch die inaktivierten Seren K und J weisen dasselbe Verhalten auf. Hier geben beim Serum K 0,05 ccm, 0,10 ccm und 0,12 ccm (4, 5, 6) dasselbe Fällungsmaterial, aber beim Serum J bekommt man ein sehr schlechtes Resultat sowohl mit 0,05 ccm als mit 0,15 ccm (11, 13), und eine gutes Ergebnis nur mit 0,10 ccm (12). Daß ein Serum von demselben Menschen zu verschiedenen Zeitpunkten, z. B. einige Stunden vor oder nach einer Mahlzeit, ungleiche Fällungsresultate geben kann, ist hiernach wahrscheinlich, und ich habe mich auch durch besondere darauf gerichtete Versuche davon überzeugt. Wünscht man deswegen eine maximale Ausfällung der WaS aus einem Serum zu erhalten, so muß man die geeignete Menge Säure auszutitrieren. Als eine Dosis, die im allgemeinen ein gutes Fällungsresultat gibt, möchte ich 0,08 ccm Säure per ccm Serum angeben; diese Dosis verwandte ich in denjenigen Fällen, wo ich es nicht für notwendig gefunden habe, eine Austitrierung vorzunehmen.

Es ist übrigens selbstverständlich, daß, was nicht aus den Sera ausgefällt wird, in Lösung bleibt und daß also bei unvollständiger Ausfällung der Globuline und der WaS das übrige in der klaren Flüssigkeit zu finden ist. Da zudem durch zu

großen Säurezusatz die Globuline wieder in Lösung gehen, muß es oft vorkommen, daß auch die klare Flüssigkeit noch positiv reagiert, besonders da man sieht, wie verschieden die Sera sich bei der Ausfällung durch Säure und destilliertes Wasses verhalten. Gloor und Klinger[1]) haben nun beim Fällen positiver Sera mit $^{n}/_{300}$-NCl im Verhältnis 9 zu 1 Serum gesehen, daß nach Entfernung der Fällungen die Flüssigkeiten noch positiv reagierten, was sie als unerwartet bezeichnen, da sie glaubten, durch ihr Vorgehen die Globuline entfernt zu haben. Berücksichtigt man aber, was oben gesagt ist, und daß diese Verfasser offenbar bei allen ihren Versuchen dieselbe Säuremenge benutzt haben, ohne der Individualität der Sera Rechnung zu tragen, so ist es selbstverständlich, daß sie das genannte Resultat erhalten mußten. Ob durch die von ihnen benutzte Methode alle Globuline ausgefällt werden, ist überdies auch nicht sicher. Die Globuline bilden doch keine so gut abgegrenzte Proteingruppe, daß man durch ein solches Fällungsverfahren sie quantitativ mit Sicherheit niederschlagen könnte. Ich habe ihre Angabe mit einem sehr stark positiven aktiven Serum nachgeprüft, wobei ich je 1 ccm Serum mit bezw. 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13 ccm $^{n}/_{300}$-HCl mischte, die 4 ersten Mischungen mit destilliertem Wasser bis 10 ccm auffüllte und zentrifugierte. Jeder der erhaltenen Bodensätze wurde dann in 1 ccm Salz- und Sodalösung gelöst, und die klaren Dialyseflüssigkeiten mit Kochsalz bis 0,8% versetzt, wonach endlich die WaR mit den Bodensatzlösungen und Dialyseflüssigkeiten nach Inaktivierung angestellt wurde. Dabei erwies es sich, daß nach niedrigerem Säurezusatz die Flüssigkeiten mehr Wassermannsubstanz, mit größerem Säurezusatz dagegen weniger enthielten, aber daß die Bodensätze bei allen Proben große Mengen Wassermannsubstanz enthielten und daß von denjenigen Proben, bei denen ich die größte Säuremenge hinzugefügt hatte, die Bodensatzlösungen beinahe die ganze WaS. beherbergten. Also auch mit diesem Vorgehen kommen ungefähr dieselben Verhältnisse vor, wie bei dem von mir besonders benutzten Fällungsverfahren mit Essigsäure und destilliertem Wasser.

Aus den oben angeführten Befunden und ebenso aus den Resultaten von weiteren 50 positiven und negativen Sera in aktivem und inaktiviertem Zustande geht folgendes hervor:

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 29.

Alle aktiven Sera geben bei Fällung nach dieser Methode mit einer passenden Menge Essigsäure Bodensätze, die sowohl positiv wie eigenhemmend sind. Stammen die Bodensätze aus negativen Seren, so verschwindet bei Inaktivierung mit seltenen Ausnahmen nicht nur die Eigenhemmung, sondern auch die positive Reaktion; stammen sie dagegen aus positiven Seren, so bewirkt die Inaktivierung nur das Wegfallen der Eigenhemmung, nicht aber der positiven Reaktion, die, allerdings ein wenig geschwächt, fortbesteht.

Die ebengenannten seltenen Ausnahmen beziehen sich hauptsächlich auf einige negative Sera, in denen schon bei sehr unbedeutender Essigsäurezugabe eine Fällung auftrat. Hier waren nämlich die Bodensatzlösungen auch nach Inaktivieren sowohl positiv wie selbsthemmend.

Bodensätze aus inaktiven Sera sind nie eigenhemmend; aus positiven Seren herrührend, reagieren sie positiv, (unter derselben Voraussetzung wie oben nämlich, daß die zugesetzte Essigsäuremenge passend ist), und aus negativen Sera herrührend negativ.

## Alkohol-, Äther- und Aceton-Versuche.

Da einige in der Literatur[1]) verzeichneten Beobachtungen, wie z. B. das Auftreten einer WaR nach Äthernarkose und das Verschwinden derselben nach einem starken Alkoholrausch auf eine Beziehung der WaS zu den Lipoiden hindeuten, habe ich Sera, positive und negative, samt deren durch Dialyse und Fällung erhaltenen Bodensätze in bezug auf ihrem Verhalten zu einigen lipoidlösenden Stoffen geprüft, nämlich zu Alkohol, Äther, Petroläther und Aceton. Von diesen war der Petroläther ganz ohne Einwirkung und die Resultate der Acetonbehandlung waren so unregelmäßig und unklar, daß ich von der Wiedergabe Abstand nehme. Es bleiben die Alkohol- und Ätherversuche übrig, worüber ich nun Bericht erstatten will. Für diejenigen, welche in Zukunft diese meine untenstehenden Ergebnisse nachprüfen wollen, muß ich bemerken, daß diese Resultate aus der Untersuchung von mehreren Hunderten von Seren und Bodensätzen hervorgegangen sind. Besonders bei den Bodensätzen wird es vorkommen, daß in

[1]) Kolle-Wassermann, Handbuch der path. Mikroorg. 2. Aufl., S. 976 und 977.

einigen Fällen die Resultate vielleicht von denen abweichen, die ich hier angeben werden. Daß Ausnahmen vorkommen, darüber soll man sich aber nicht wundern, wenn man nur bedenkt, wie verschieden die Zusammensetzung der Seren — z. B. schon nach verschiedenen Mahlzeiten — sind und wie ungleich dadurch auch ihre Bodensätze werden müssen; da ja weiter bekanntlich Lipoide und Eiweißkörper ihre Löslichkeit gegenseitig in erheblichem Grade beeinflussen, so kommen natürlich Schwankungen in bezug auf die Löslichkeitsverhältnisse dieser Stoffe nicht nur in den Seren selbst, sondern auch in den aus ihnen hervorgegangenen Bodensätzen vor. Nicht aus einem Versuche ist es deswegen statthaft Schlüsse zu ziehen, sondern nur aus Reihen von Versuchen.

### Alkoholextraktion von Sera und ihren Bodensätzen.

Setzt man Alkohol zu einem Serum, so tritt bekanntlich eine Fällung auf. War das Serum wassermannpositiv, so gelingt es nicht, soweit ich gesehen habe die thermostabile Wassermannsubstanz weder in dem wieder gelösten Bodensatz noch in der von Alkohol so weit wie möglich befreiten Flüssigkeit wiederzufinden.

Ich habe dann versucht die Sera auf dünnem, weißen Filtrierpapier einzutrocknen, um sie später mit Alkohol zu behandeln. Inzwischen haben Berczeller und Schillinger[1]) eine Untersuchung mit Verwendung derselben Versuchsanordnung veröffentlicht. Diese Autoren geben als das Resultat ihrer Alkoholversuche an, „daß der Rückstand der mit Alkohol extrahierten Sera keine Wassermannreaktion mehr gibt. Andererseits können wir keine Substanzen extrahieren, die als Reaktionskörper aufgefaßt werden können.“ Sie heben auch hervor, „daß die Wirkung der Alkohole von verschiedener Stärke ist,“ wobei sie den Methylalkohol als am wirksamsten, dann den 70% und den 96% Äthylalkohol als am wenigsten wirksam fanden.

Methylalkohol habe ich nicht geprüft und habe deswegen keine eigene Auffassung von dessen Wirkung auf die WaR der Seren; aber verschiedene Konzentrationen des Äthylalkohols sind von mir in dieser Beziehung untersucht.

Die Sera wurden, wie schon gesagt, auf dünnem Filtrierpapier bei ungefähr 30° eingetrocknet und beim Herauslösen, ohne oder nach statt-

[1]) Diese Zeitschr. 90.

gefundener Alkoholbehandlung, habe ich eine der ursprünglichen Serummenge entsprechende Quantität Salz- oder Sodalösung oder 1 : 2000 Essigsäure benutzt. Folgende Alkoholkonzentrationen sind hierbei von mir verwandt worden: Nämlich absoluter, frisch über Natron destillierter Alkohol, 80 proz., 70 proz. und 50 proz. Weingeist. Die Einwirkungszeit dieser verschiedenen, starken Alkohole auf die eingetrocknete Sera war 12—24 Stunden.

Von positiven Seren sind nur schon inaktivierte Sera in dieser Weise untersucht. Als Ergebnissse habe ich gefunden, daß der absolute Alkohol keine Einwirkung auf die WaR ausübte, sondern daß die eingetrockneten, positiven Sera nach Behandlung mit solchem Alkohol denselben Grad von positiver Reaktion, wie vor der Alkoholbehandlung und wie die eingetrockneten, nicht mit Alkohol behandelten Kontrollen zeigten; daß dagegen, ganz wie Berczeller und Schillinger es angeben, Alkohol in verschiedener Verdünnung den eingetrockneten Seren die positive WaR vollständig nahmen und daß es nicht möglich war, die Reaktion in den eingedampften Alkoholrückständen weder nach Lösung in Salz- und Sodalösung oder in negativen Seren wiederzufinden.

Die Alkoholbehandlung der negativen Sera wirkte auf deren WaR nicht ein. Das Eintrocknen selbst bewirkte dagegen eine gewisse Änderung in der Art, daß solche aktive negative Sera, die auch aktiv negativ reagierten, durch das Eintrocknen und Ablösen vom Filtrierpapier regelmäßig positiv reagierten, nach dem Inaktivieren aber doch wieder negativ wurden. Ähnliches haben auch Berczeller und Schillinger gesehen; sie glauben, daß dies vom Komplementschwund herrührt. Daß Komplementschwund dabei vorkommt, daran zweifle ich nicht, aber durch Komplementschwund kann die Hemmung hier nicht erklärt werden, da ja bei der Ausführung der WaR Meerschweinchenkomplement zugesetzt wird. Wahrscheinlich rührt die Hemmung vielmehr von einer Dispersitätsänderung her. Durch Inaktivieren solcher aus dem Papier ausgelösten Sera werden sie, wie schon erwähnt, regelmäßig wieder negativ.

Während es nach dem Eintrocknen positiver Sera auf Filtrierpapier immer gelingt, die Sera mit unveränderter wassermannpositiven Eigenschaften durch Salz- und Sodalösung oder Essigsäure 1 : 2000 herauszulösen, so kommt es öfter vor, wenn man in

Salz- und Sodalösung gelöste Bodensätze von positiven Seren auf Filtrierpapier eintrocknet, daß beim Versuche, die positiven Bodensätze aus dem Papier mit Salz- und Sodalösung oder mit Essigsäure 1 : 2000 wieder herauszubekommen, die so erhaltenen Lösungen, welche stark albuminhaltig sind, nicht positiv, sondern glatt wassermannnegativ sind. Anstatt Filtrierpapier habe ich deshalb Leinwand, Baumwollstoff und Glaswolle geprüft in der Hoffnung, einen Stoff zu finden, aus dem regelmäßig nach Eintrocknen von wassermannpositiven Bodensätzen auch die WaS herausgelöst werden könnte. Diese Stoffe haben aber ganz dasselbe Resultat wie das Filtrierpapier in dieser Beziehung ergeben. Wegen dieser Unbeständigkeit, die möglicherweise davon abhängt, daß die WaS unter diesen Verhältnissen mitunter zerstört wird, ist die Eintrocknungsmethode, sobald es sich um Bodensätze handelt, nicht verwendbar.

Ich habe deshalb auch Bodensätze von aktiven positiven Seren nach Weggießen aller obenstehender Flüssigkeit direkt mit den verschiedenen Alkoholkonzentrationen behandelt und teile in der untenstehenden Tabelle II die Ergebnisse eines solchen Versuches mit

Tabelle II.

Bodensätze durch Fällen von aktivem positiven Serum mit Essigsäure und destilliertem Wasser erhalten; die obenstehende Flüssigkeit sorgfältig weggegossen.

1. Bodensatz von 1 ccm Serum wird in 1 ccm Salz- und Sodalösung gelöst.
2. Bodensatz von 1 ccm Serum wird mit 9 ccm absolutem Alkohol 24 Stunden behandelt, der Alkohol weggegossen und der Rückstand in 1 ccm Salz- und Sodalösung gelöst.
3. wie 2., nur daß anstatt absolutem Alkohol hier 95 proz. Alkohol benutzt wurde.
4. wie 2., nur anstatt absolutem Alkohol 80 proz. Alkohol.
5. wie 2., nur anstatt absolutem Alkohol 60 proz. Alkohol.

| | WaR: | | | | Kontrolle ohne Antigen |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,2 ccm | 0,1 ccm | 0,03 ccm | 0,01 ccm | 0,2 ccm |
| 1. inaktiviert | + | + | + | — | — |
| 2. „ | + | + | + | — | — |
| 3. „ | + | — | — | — | — |
| 4. „ | — | — | — | — | — |
| 5. „ | — | — | — | — | — |

Wie hieraus ersichtlich ist, verschwindet die WaS nach Behandlung der Bodensätze mit 95proz. Alkohol beinahe vollkommen und gänzlich nach Behandlung mit 80- und 60proz. Alkohol. Dagegen beeinflußt der absolute Alkohol sie gar nicht. Der Versuch ist wiederholt mit Einwirkung des Alkohols sowohl bei Zimmertemperatur als bei 37° und mit verschiedenen Einwirkungszeiten des Alkohols auf die Bodensätze angestellt, immer mit demselben Resultat, so weit es die 80proz. und 60proz. Alkohole betrifft, aber mit dem abs. Alkohol verhält es sich ein wenig variabel. In einigen Fällen erhält man nämlich negative WaR auch nach einer solchen Alkoholbehandlung. Dies kann von zwei Umständen abhängen, entweder davon, daß die Alkoholbehandlung direkt die Wassermannsubstanz beeinflußt, so daß sie in Salz- und Sodalösung unlöslich wird, oder davon, daß bei verschiedener Zusammensetzung der Bodensätze vielleicht Stoffe vorkommen oder fehlen können, die die Löslichkeit bezw. die Unlöslichkeit der WaS in abs. Alkohol bedingen.

Daß ein großer Teil des Bodensatzes nach Alkoholbehandlung, sei es mit abs. oder verdünntem Alkohol, in Salz- und Sodalösung unlöslich wird und auch nicht in 1 : 2000 Essigsäure gelöst werden kann, könnte vielleicht für die ersterwähnte Möglichkeit sprechen, aber in diesem Falle sollte doch die WaS in allen Fällen durch abs. Alkohol unlöslich gemacht werden, was ja nicht der Fall ist. Mir scheint es deshalb vielmehr wahrscheinlich, daß die Unterschiede, die nach der Behandlung mit abs. Alkohol vorkommen, von der An- bezw. Abwesenheit anderer Stoffe in den Bodensätzen abhängen. In dieser Auffassung werde ich noch dadurch bestärkt, daß erstens die WaS in den eingetrockneten Sera nach Behandlung mit absolutem Alkohol erhalten bleibt und in Salz- und Sodalösung löslich ist, und zweitens, daß die Behandlungszeit von keiner Bedeutung ist. Sowohl nach einstündiger wie nach dreitägiger Einwirkung von absolutem Alkohol auf positive Bodensätze habe ich allerdings am häufigsten positive, aber auch negative Reaktion erhalten.

Selbstverständlich habe ich auch versucht, die durch Alkoholbehandlung verlorene positive WaR wiederzubekommen. Für diesen Zweck habe ich diejenigen Alkoholmengen, mit welchen die positiven Bodensätze negativ gemacht worden waren, teils mit Salz- und Sodalösung vermischt und den Alkohol im

Vacuum bei 35 entfernt, teils den Alkohol in Vacuum bei 35° eingedampft und die so erhaltenen Rückstände in einigen Fällen mit eben alkoholextrahierten vorher positiven, jetzt negativen, in Salz- und Sodalösung gelösten Bodensätzen, in anderen Fällen in negative Seren zu lösen versucht, wobei jedoch immer ein nicht unbedeutender Teil ungelöst blieb. Die so erhaltenen Lösungen wurden dann nach Inaktivieren auf ihrer WaR geprüft, ohne jemals eine positive Reaktion zu erzeugen. Ohne Inaktivieren erhält man allerdings eine positive Reaktion; da sie indessen termolabil ist, ist sie bedeutungslos.

Wird der Bodensatz aus aktiven positiven Seren zuerst in Salz- und Sodalösung gelöst und dann mit Alkohol behandelt, der Alkohol entfernt und die Lösung inaktiviert, so zeigen sich die Proben ausnahmslos negativ.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Alkoholbehandlung von eingetrockneten positiven Seren und von Bodensätzen aus solchen Seren, so findet man, daß in beiden Fällen die positive Reaktion durch Behandlung mit mehr oder weniger verdünntem Alkohol verschwindet und nicht mehr wiederzufinden ist, was mit den oben zitierten Ergebnissen von Berczeller und Schillinger übereinstimmt. Absoluter Alkohol ist dagegen bei eingetrockneten Sera indifferent in bezug auf deren WaR, während er wie gesagt, bei positiven Bodensätzen ein wechselndes Ergebnis liefert, oft wirkungslos wie bei den eingetrockneten Sera, mitunter auch die WaR zum Verschwinden bringend.

## Ätherversuche.

Bei diesen Versuchen muß genau darauf geachtet werden, daß nur vollkommen reiner Äther zur Verwendung kommt. Anfangs bekam ich z. B. einen Äther, der mit einem spez. Gewicht von 0,72 so rein war, daß ein seit vielen Jahren mit der Ätherfabrikation und Ätherkontrolle beschäftigter und übrigens sehr erfahrener Chemiker keine Verunreinigungen, besonders keinen Acetaldehyd oder Vinylalkohol darin entdecken vermochte. Dieser Äther gab jedoch, wenn zwei oder mehrere ccm zusammen mit 1 ccm Salz- und Sodalösung bis zum Verschwinden

des Äthers bei 35° in Vacuum verdampft wurde, der dann inaktivierten Salz- und Sodalösung eine positive WaR nebst einiger Selbsthemmung. Äther pro Narcosi, der über Natron destilliert war, gab bei ähnlichen Kontrollversuchen diese Reaktion nicht, und so ist dieser Äther für alle untenerwähnten Versuche benutzt. Selbstverständlich sind jedoch bei jeder Versuchsreihe Kontrollproben betreffs der Ätherhemmung gemacht, um Versuchsfehler zu vermeiden.

Wie verhalten sich nun erstens negative Sera nach Ätherbehandlung?

Überschichtet man z. B. je 2 ccm eines negativen Serums, das auch aktiv vollkommen negativ ist, teils in aktivem, teils in inaktivem Zustande mit je 2 ccm Äther und saugt nach 5 bis 24 Stunden ein wenig Serum auf, mit dem die WaR angestellt wird, so findet man, daß das aktive Serum fast immer durch die Ätherbehandlung positiv und selbsthemmend geworden ist, nach Inaktivieren jedoch wieder negativ wird, während das inaktive Serum durch den Äther nicht verändert wird, sondern trotzdem seine negative Reaktion behält. Schüttelt man dagegen negative Sera mit Äther einige Stunden, so werden die Sera, gleichviel ob sie aktiv oder inaktiv sind, positiv und selbsthemmend — die inaktiven freilich im geringeren Grade —, vorausgesetzt, daß man wenigstens 0,05 ccm Äther jedem ccm Serum zufügt und nach dem Schütteln nicht inaktiviert. (Serumkontrollen, die ohne Ätherzusatz gleichzeitig mit den anderen Proben geschüttelt wurden, gaben bei aktiven negativen Sera allerdings eine positive, aber schwächere Reaktion als die ätherbehandelten Sera, und bei inaktiven negativen Seren trat keine Veränderung der Reaktion ein als Folge des Schüttelns.) Beim Inaktivieren werden diese durch Ätherbehandlung positiv gemachten Sera wieder negativ.

Ich habe versucht, die negative Reaktion solcher ätherisierten Sera durch Behandlung in Vakuum bei 37° ohne Inaktivierung wiederzubekommen, aber es war unmöglich. Es scheint mir, als ob der Äther, wahrscheinlich in den Lipoiden der Sera gelöst, nur durch eine höhere Temperatur, wie z. B. die Inaktivierungstemperatur, freigemacht werden konnte.

Nach Ätherbehandlung positiver Sera werden diese auch selbsthemmend und stärker positiv als vorher unter denselben Voraussetzungen, wie die negativen Sera positiv und selbsthemmend werden. Beim Inaktivieren verschwinden jedoch diese durch die Ätherbehandlung erworbenen Eigenschaften, ganz so wie bei den negativen Sera, und jene Sera reagieren genau wie dieselben Sera, die ohne Ätherbehandlung inaktiviert worden sind.

Dann habe ich auch Bodensätze von positiven und negativen Sera mit Äther behandelt. Das Resultat dieser Prozedur wechselt, je nachdem die Bodensätze in ungelöstem Zustande oder in Salz- und Sodalösung gelöst selbst mit dem Äther in Berührung kommen.

a) Bei Behandlung von ungelösten Bodensätzen mit Äther habe ich erstens die oben stehende Flüssigkeit nach dem Zentrifugieren genau abgegossen und dann gleich, ohne den Bodensatz trocknen zu lassen, Äther zugefügt, den Bodensatz gut umgerührt (Umschütteln geht nicht, da der Bodensatz nach der Berührung mit dem Äther salbenartig, schmierig wird) und den Äther zusammen mit dem Bodensatz 2 bis 8 Stunden stehenlassen. Für jeden Bodensatz aus einem Kubikzentimeter Serum wurden 10 ccm Äther benutzt. Nach dem Abgießen des Äthers wurde der Bodensatz mit 1 ccm Salz und Soda behandelt, wobei er vollkommen, aber mit Opalescenz, in Lösung ging. (Die nicht ätherbehandelten Bodensätze gaben ja im allgemeinen vollkommen wasserklare Lösungen.)

Bei in dieser Weise ätherbehandelten Bodensätzen konnte ich keine Änderung ihrer WaR finden, sondern sie reagierten gleichartig vor und nach der Äthereinwirkung. Vielleicht war die Reaktion der positiven Bodensätze in einigen Fällen ein wenig stärker nach der Ätherbehandlung als vor derselben.

b) Wenn ich dagegen die Bodensätze zuerst in Salz- und Sodalösung löste und dann diese Lösungen mit Äther behandelte, so bekam ich ganz andere Ergebnisse.

Jeder Bodensatz aus 1 ccm Serum wurde in 1 ccm Salz- und Sodalösung oder, aber nicht mit ganz demselben Vorteil, in 1 ccm

Essigsäure 1 : 5000 gelöst; 10 ccm Äther wurden dann zugesetzt, einmal umschüttelt, und zusammen mit der Bodensatzlösung eine Stunde ohne weiteres Schütteln bei 10° gelassen, dann sorgfältig mit einer Pipette weggenommen. Die Einwirkung einer solchen Ätherbehandlung auf die Bodensätze geht aus der folgenden Tabelle III hervor.

Tabelle III.

Das aktive Serum A, das aktive Serum B, Serum B inaktiviert, das negative Serum C und Serum C, inaktiviert, wurden wie gewöhnlich mit Essigsäure und destilliertem Wasser gefällt und die gefällten Flüssigkeiten in Röhrchen so verteilt, daß in jedes Röhrchen eine Menge kam, die genau einem Kubikzentimeter Serum entsprach, weshalb also nach Zentrifugieren jeder Bodensatz auch einem Kubikzentimeter Serum entsprach. Die Bodensätze wurden je in einem Kubikzentimeter Salz- und Sodalösung gelöst und die Ätherbehandlung, wie oben beschrieben, bei einigen Bodensatzlösungen gemacht. Diejenigen Bodensätze, welche aus aktiven Sera stammten, wurden vor der Wassermannprobe inaktiviert.

| | | WaR in Dosis von | | | | Kontr. ohne Antigen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0,2 | 0,1 | 0,03 | 0,01 | 0,2 ccm |
| 1. Akt. Ser. A. | inaktiv. | + | + | + | + | — |
| 2. Bodensatzlös. von 1. | „ | + | + | + | + | — |
| 3. „ „ 1., Ätherbehandl. | „ | — | — | — | — | — |
| 4. Akt. Ser. B. | „ | + | + | + | + | — |
| 5. Bodensatzlös. von 4. | „ | + | + | + | — | — |
| 6. „ „ 4., Ätherbehandl. | „ | + | — | — | — | — |
| 7 Inakt. Ser. B. | | + | + | + | + | — |
| 8. Bodensatzlös. von 7 | | + | + | + | + | — |
| 9. „ „ 7., Ätherbehandl. | | + | + | + | — | — |
| 10. Akt. Ser. C. | inaktiv. | — | — | — | — | — |
| 11. Bodensatzlös. von 10. | „ | — | — | — | — | — |
| 12. „ „ 10., Ätherbehandl. | „ | — | — | — | — | — |
| 13. Inakt. Ser. C | | — | — | — | — | — |
| 14. Bodensatzlös. von 13. | | — | — | — | — | — |
| 15. „ „ 13., Ätherbehandl. | | — | — | — | — | — |

Wenn man zuerst die negativen Sera in der oben stehenden Tabelle betrachtet, so ist es deutlich, daß ihre Bodensatzlösungen, gleichviel ob sie aus aktiven oder inaktivierten Seren stammen, durch die Ätherbehandlung nicht beeinflußt wurden. Vor wie nach der Einwirkung verhielten sie sich, soweit es

die WaR betraf, ganz gleich. Und dies ist für die negativen Sera vollkommen konstant.

Betreffs der hier benutzten positiven Sera sieht man erstens, daß die Ausfällung der WaS beim Serum A und beim Serum B (inaktiv) quantitativ, beim aktiven Serum B dagegen nicht quantitativ gewesen ist, daß also dasselbe Serum in aktivem und inaktivem Zustande verschiedene Mengen von Säure erfordert, um die ganze WaS ausfallen zu lassen. Als Folge der Ätherbehandlung wird die Bodensatzlösung des Serums A (3) vollkommen negativ, beim Serum B aktiv bewirkt sie eine sehr große, und bei demselben Serum inaktiv eine kleinere, aber doch vollkommen unzweifelhafte Abnahme der genannten Substanz. Aus einer großen Reihe ähnlicher Versuche, wo die positiven Bodensatzlösungen aus positiven aktiven Sera durch die Ätherbehandlung glatt negativ wurden, die positiven Bodensatzlösungen aus denselben Sera in inaktivem Zustande aber ihre positive Reaktion trotz der Ätherbehandlung ungefähr unverändert behielten, ist es indessen klar, daß das Inaktivieren eine solche Einwirkung auf die WaS hat, daß sie für Äther mehr oder weniger unerreichbar wird, was wahrscheinlich durch eine festere Adsorption oder Bindung der Substanz an andere Stoffe bei der Erwärmung herrührt. Daß aber eine Abnahme der WaS bei positiven Bodensatzlösungen aus positiven aktiven Sera durch die Ätherbehandlung erfolgt, ist konstant, ihre Größe dagegen variabel, wie aus der Tabelle ersichtlich ist. Sehr oft wird — wie beim Serum A — ein Bodensatz, der vorher stark positiv war, hierdurch vollkommen negativ.

Löst man die Bodensätze in 1 : 5000 Essigsäure anstatt wie gewöhnlich in Salz- und Sodalösung, so ist das für die Äthereinwirkung ohne Bedeutung.

Ich habe nun versucht, ob durch verschiedene Temperaturen oder verschiedene Einwirkungszeiten des Äthers das Verschwinden der WaS befördert werden könnte. Eine Behandlungstemperatur von 10° hat sich dabei wenigstens ebensogut oder vielleicht sogar ein wenig besser als 35° bewährt, weshalb die Versuche bei jener Temperatur vorgenommen sind. Als Behandlungszeit mit dem Äther habe ich immer eine Stunde gewählt, nachdem ich fand,

daß 15 Minuten ungenügend waren und daß bessere Resultate nicht bei längerer Ätherbehandlung zu erzielen waren. Vom Schütteln in einer Schüttelmaschine erwartete ich eine Verbesserung; das war aber nicht der Fall, und deswegen sind, wie von Anfang ab, die Proben nach dem Ätherzusatz nur einmal und nicht weiter umgeschwenkt.

Es lag nun nahe zu prüfen, ob der Äther die Substanz herausgelöst oder nur zerstört hätte, und ob man durch Eindampfen des Äthers die Substanz in gereinigtem Zustand erhalten könnte. Zu diesem Zwecke habe ich nun solchen Äther, mit dem positive Bodensätze behandelt waren und die WaS zum Verschwinden gebracht war, teils im Luftstrom bei 35° oder in Vakuum bei Zimmertemperatur oder bei 35° eingedampft, um den Rückstand dann in Salz- und Sodalösung oder in negatives Serum oder endlich in eine Bodensatzlösung von negativem Serum zu lösen, in der Hoffnung, daß so diese Flüssigkeiten positive Reaktion bekommen würden; teils habe ich auch den Äther mit den genannten Flüssigkeiten gemischt und den Äther im Vakuum bei 35° oder bei Zimmertemperatur entfernt. Die quantitativen Verhältnisse wurden dabei immer so abgepaßt, daß eine Äthermenge, mit der eine positive Bodensatzlösung von einem ccm Serum behandelt war, auch genau einem ccm negativen Serum oder Lösung zugesetzt wurde. Vor dem Anstellen der WaR wurden alle Lösungen inaktiviert.

Von diesen Versuchen gaben diejenigen, wo ich nach Eindampfen des Äthers die Rückstände in Salz- und Sodalösung, in negativem Serum oder in Bodensatzlösung von einem negativen Serum zu lösen versuchte, nur negative Resultate. Niemals gelang es, diese Flüssigkeiten hierdurch in positive zu verwandeln. Es muß bemerkt werden, daß die Rückstände nicht vollkommen gelöst wurden, so daß, wenn nur diese Versuche berücksichtigt werden, nicht ausgeschlossen werden kann, daß das negative Resultat hierdurch bedingt ist und daß, wenn man eine Lösung des Rückstandes bewirken könnte, das Resultat ein anderes geworden wäre. Eine vollkommene Lösung des Ätherrückstandes habe ich indessen aber weder in bis 4 proz. Sodalösung noch in bis 1 proz. Essigsäure erhalten können, weshalb eine vollkommene Lösung in die anderen oben erwähnten Flüssigkeiten offenbar unmöglich ist. Dasselbe negative Ergebnis haben

auch die anderen Versuche geliefert, wo ich den Äther mit den mehrerwähnten Flüssigkeiten mischte und ihn später im Vakuum entfernte. Auch hierbei löste sich das im Äther gelöste nicht vollständig in den Flüssigkeiten aber es ging doch hier viel mehr in Lösung als bei dem erstgenannten Verfahren.

Mischte ich dagegen 10 ccm solchen Äther mit einer Bodensatzlösung, die eben mit dem Äther behandelt und früher positiv, aber durch die Ätherbehandlung negativ geworden war, entfernte wie vorher den Äther in Vakuum und inaktivierte die Lösung, so zeigte es sich, daß die Bodensatzlösung ihre positive Reaktion wiederbekommen hatte.

Da man also durch Vereinigung der ätherbehandelten und dadurch negativ gemachten Bodensatzlösung mit dem hierfür angewandten Äther die positive Reaktion wiederbekommt, so ist es naheliegend anzunehmen, daß die WaS aus zwei Bestandteilen aufgebaut ist, einen ätherlöslichen und einen in der ätherbehandelten Bodensatzlösung zurückbleibenden. Indessen zeigte es sich bei den fortgesetzten Versuchen, daß auch Äther, mit welchem man negative Bodensatzlösungen behandelt hatte, ganz dieselbe Wirkung in dieser Beziehung hatte und daß endlich sogar Äther, ohne daß er in irgendeine Berührung mit irgendeinem anderen Stoffe gekommen sei, sondern ganz rein aus den Flaschen entnommen war, dieselbe Eigenschaft aufwies. Ja, durch ein Ätherabdampfen, wie es oben beschrieben ist, d. h. nach Mischung von Äther mit einer durch Äther negativ gemachten, vorher positiven Bodensatzlösung, kann positive Reaktion der Bodensatzlösung nicht nur wiederhergestellt, sondern mitunter sogar ein wenig verstärkt werden. Eine Bodensatzlösung, die in der Dosis von 0,03 ccm schwach positiv reagierte, gab nach einer solchen Behandlung eine positive Reaktion sehr stark bei gleicher Dosis.

Hier möchte ich nun noch einmal darauf hinweisen, was ich im Anfange meiner Berichte der Ätherversuche hervorhob, nämlich wie außerordentlich bedeutungsvoll es ist, reinen Äther zu haben, da der bei der chemischen Analyse vollkommen rein erscheinende Äther doch solche Verunreinigungen enthalten kann, daß er nach Mischung mit Salz- und Sodalösung und folgendem Entfernen im Vakuum dieser Lösung eine positive Reaktion gibt,

die nicht von einer wahren WaR zu unterscheiden ist, auch in der Beziehung, daß sie das Inaktivieren verträgt, es sei denn, daß die Lösung auch ein wenig selbsthemmend war. Ich möchte jetzt einen von meinen zahlreichen hier gehörigen Versuchen im einzelnen anführen, um diese eigenartigen Verhältnisse zu beleuchten (Tabelle IV).

### Tabelle IV.

2 positive, aktive Sera, R.P. und K.A., und 2 negative, aktive Sera, D und K, wurden wie gewöhnlich mit Essigsäure und destilliertem Wasser gefällt; die so gefällten Flüssigkeiten in Röhrchen derart verteilt, daß jedes Röhrchen eine Menge enthielt, die genau einem Kubikzentimeter des Serums entsprach; die Röhrchen wurden stark zentrifugiert und die Bodensätze je in einem Kubikzentimeter Salz- und Sodalösung gelöst.

1. Serum R.P.
2. Bodensatzlösung von Ser. R.P.
3. Bodensatzlösung von Ser. R.P. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther abgegossen.
4. Bodensatzlösung von Ser. R.P. + 10 ccm Äther; der Äther durch Vakuum bei 35° entfernt.
5. Bodensatzlösung von Ser. R.P. + 10 ccm Äther; ganz wie 3; der Äther doch wieder zugefügt und wie in 4 entfernt.
6. Bodensatzlösung von Ser. R.P. + 10 ccm Äther; ganz wie 3; neuen reinen Äther zugefügt und wie in 4. entfernt.
7. Bodensatzlösung von Ser. R.P. + 10 ccm Äther; ganz wie 3; Äther von negativer Bodensatzlösung 17 zugefügt und wie in 4 entfernt.
8. Serum K.A.
9. Bodensatzlösung von K.A.
10. Bodensatzlösung von K.A. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther abgegossen.
11. Bodensatzlösung von K.A. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther durch Vakuum bei 35° entfernt.
12. Bodensatzlösung von K.A. + 10 ccm Äther; ganz wie 10; der Äther doch wieder zugefügt und wie in 10 entfernt.
13. Bodensatzlösung von K.A. + 10 ccm Äther; ganz wie 10; neuen, reinen Äther zugefügt und wie in 10 entfernt.
14. Bodensatzlösung von K.A. + 10 ccm Äther; ganz wie 10; Äther von negativer Bodensatzlösung 17 zugefügt und wie in 11 entfernt.
15. Serum D.
16. Bodensatzlösung von D.
17. Bodensatzlösung von D. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther abgegossen.
18. Bodensatzlösung von D. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther durch Vakuum bei 35° entfernt.
19. Bodensatzlösung von D. + 10 ccm Äther; ganz wie 17; der Äther doch wieder zugefügt und wie in 18 entfernt.

20. Bodensatzlösung von D. + 10 ccm Äther; ganz wie 17; neuen reinen Äther zugefügt und wie in 18 entfernt.
21. Bodensatzlösung von D. + 10 ccm Äther; ganz wie 17; Äther von der positiven Bodensatzlösung 3 zugefügt und wie in 18 entfernt.
22. Serum K.
23. Serum K. + 10 ccm Äther von 3 und wie in 4 entfernt.
24. Bodensatzlösung von K.
25. Bodensatzlösung von K. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther abgegossen.
26. Bodensatzlösung von K. + 10 ccm Äther; nach 1 Stunde der Äther durch Vakuum bei 35° entfernt.
27. Bodensatzlösung von K. + 10 ccm Äther; ganz wie 25; der Äther doch wieder zugefügt und wie in 26 entfernt.
28. Bodensatzlösung von K. + 10 ccm Äther; ganz wie 25; neuen reinen Äther zugefügt und wie in 26 entfernt.
29. Bodensatzlösung von K. + 10 ccm Äther; ganz wie 25; Äther von der positiven Bodensatzlösung 10. zugefügt und wie in 26 entfernt.
30. 1 ccm Salz- und Sodalösung + 10 ccm Äther; Äther im Vakuum entfernt.

Wie aus den Tabellen III, IV und V hervorgeht und übrigens schon vorher erwähnt ist, ist das Ausfällen der WaS der Sera nicht immer vollständig (z. B. Tabelle V, 8 und 9). Um vollständige Ausfällung zu sichern, muß man den optimalen Essigsäurezusatz austitrieren, was hier nicht geschehen ist. Hier habe ich ganz einfach 0,08 ccm einer 2 proz. Essigsäurelösung pro Kubikzentimeter Serum zugesetzt. Die Tabellen illustrieren sehr gut, was oben betreffs der Ätherwirkung auf positive Bodensatzlösungen schon gesagt ist. Sie zeigen zudem, daß Äther ohne Einfluß auf die WaR bei negativen Bodensatzlösungen ist; auch daß man nicht mit solchem Äther, womit positive Bodensatzlösungen negativ gemacht worden sind, negative Bodensatzlösungen in positive verwandeln kann (21 und 29).

Da, wie schon oben gesagt, unvollkommen gereinigter Äther, auch wenn er bei sachverständiger Prüfung rein erscheint, doch solche Verunreinigungen enthalten kann, daß er eine positive WaR einer Salz- und Sodalösung zu erteilen vermag, so habe ich auch nebst dem im allgemeinen von mir benutzten reinen, über Natron destillierten Äther pro Narcosi auch einen anderen Äther in dieser Beziehung geprüft, nämlich einen Äther, der mir liebenswürdigst vom hiesigen chemischen Universitätslaboratorium zur Verfügung gestellt wurde mit der Angabe, daß er der reinste Äther war, der überhaupt erhalten werden konnte. Dieser

Tabelle V.

Die in Tabelle IV aufgeführten Sera und Lösungen wurden sämtlich inaktiviert und dann die WaR gemacht mit folgenden Resultaten. Die Nummern sind dieselben wie in der Tabelle IV.

| | WaR in untenstehenden Mengen gemacht | | | | Kontr. ohne Antigen |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0.2 | 0.1 | 0.03 | 0,01 ccm | 0.2 ccm |
| 1. | + | + | + | + | — |
| 2. | + | + | + | + | — |
| 3. | — | — | — | — | — |
| 4 | + | + | + | + | — |
| 5. | + | + | + | + | — |
| 6. | + | + | + | + | — |
| 7. | + | + | + | + | — |
| 8. | + | + | + | + | — |
| 9. | + | + | + | — | — |
| 10. | + | + | — | — | — |
| 11. | + | + | + | — | — |
| 12. | + | + | + | — | — |
| 13. | + | + | + | — | — |
| 14. | + | + | + | — | — |
| 15 | — | — | — | — | — |
| 16. | — | — | — | — | — |
| 17. | — | — | — | — | — |
| 18. | — | — | — | — | — |
| 19. | — | — | — | — | — |
| 20. | — | — | — | — | — |
| 21. | — | — | — | — | — |
| 22. | — | — | — | — | — |
| 23. | — | — | — | — | — |
| 24. | — | — | — | — | — |
| 25. | — | — | — | — | — |
| 26. | — | — | — | — | — |
| 27. | — | — | — | — | — |
| 28. | — | — | — | — | — |
| 29. | — | — | — | — | — |
| 30. | — | — | — | — | — |

Äther stammte aus einer anderen Fabrik als mein erstes Material. Auch mit diesem zweiten Äther habe ich ganz dieselben Resultate bekommen, wie mit dem ersten und dies eben mit den in den Tabellen IV und V benutzten Seren erhalten.

Ob Entfernen des Äthers bei 35° das beste sei oder ob vielleicht eine niedrigere oder höhere Temperatur für die Wiederherstellung der WaR bei durch Ätherbehandlung negativ ge-

machter Bodensatzlösungen vorteilhafter wäre, habe ich selbstverständlich geprüft, dabei aber gefunden, daß das Resultat ungefähr dasselbe war, einerlei ob das Entfernen des Äthers bei 10°, 35° oder 40° geschah. Möglicherweise war es doch ein wenig besser bei 35°, weshalb diese Temperatur auch von mir angewandt ist. Ob ich anstatt 10 ccm Äther 40 ccm für diese Versuche verwandte, war gleichgültig.

Fällte ich die Sera mit 9 ccm $^{n}/_{300}$-HCl pro Kubikzentimeter Serum anstatt, wie gewöhnlich, mit Essigsäure und destilliertem Wasser, und löste ich die Bodensätze in Salz- und Sodalösung und behandelte diese Bodensatzlösungen mit Äther, so bekam ich ganz dieselben Resultate wie oben, was erweist, daß auch jene Fällungsmethode für die Ätherbehandlung anwendbar ist. Auch Dialysebodensatzlösungen verhielten sich ebenso.

Daß negative Bodensatzlösungen weder durch solchen Äther, mit welchem positive Bodensatzlösungen negativ gemacht worden sind, noch mit reinem Äther positiv gemacht werden können, ist vollkommen konstant, ebenso wie daß ursprünglich positive durch Äther negativ gemachte Bodensatzlösungen ihre positive Reaktion durch Ätherbehandlung wieder annehmen.

Und noch weiter: hatte ich eine positive Bodensatzlösung mit Äther negativ gemacht und dann durch Äther die positive Reaktion wieder angestellt, so war es möglich, unter Verwendung derselben Lösung, jedenfalls noch einmal dieselbe Prozedur mit Wegnehmen und Wiederherstellung der Reaktion durch Äther zu wiederholen.

Vergleicht man die Einwirkung von Äther direkt auf Sera und auf die aus ihnen durch Globulinfällungsmethoden erhaltenen Bodensatzlösungen, so scheint es mir wahrscheinlich, daß der Unterschied von der großen Verschiedenheit im Proteingehalt einerseits der Sera, andererseits der Bodensatzlösungen abhängt. Diese enthalten ja nur einen Bruchteil der Serumproteine und zudem nur eine Gruppe davon. Also nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Differenzen.

Eine Körperflüssigkeit, die ja mit wassermannpositiver Reaktion im Proteingehalt sich den hier benutzten Bodensatz-

lösungen nähert, ist die Cerebrospinalflüssigkeit, und hier schien es mir deswegen aussichtsreich, die oben für die Bodensatzlösungen beschriebenen Verhältnisse bei der Ätherbehandlung wiederzufinden, ohne die Flüssigkeit fällen zu brauchen. Dies ist mir nun auch gelungen, wie die Tabelle VI erweist.

### Tabelle VI.

3 positive Cerebrospinalflüssigkeiten, G, J, H, und 2 negative, L und M, sind mit Äther in derselben Weise wie die Bodensatzlösungen in Tabelle IV behandelt.

| | | WaR in untenstehenden Dosen vorgenommen | | | Kontr. ohne Antigen |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 ccm | 0,4 ccm | 0,2 ccm | 1,0 ccm |
| 1. G . . . . . . . . . | inaktiv. | + | + | + | — |
| 2. „ 10 ccm Äther, nach 1 Stunde weggegoss. | „ | + | — | — | — |
| 3. „ wie 2., dann neuen Äther zugefügt und durch Vakuum entfernt . . . . . . . | „ | + | + | + | — |
| 4. J . . . . . . . . . . . | „ | + | + | + | — |
| 5. „ wie 2. . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 6. „ wie 3. . . . . . . | „ | + | + | + | — |
| 7. H. . . . . . . . . . . | „ | + | + | + | — |
| 8. „ wie 2. . . . . . . | „ | + | + | — | — |
| 9. „ wie 3. . . . . . . | „ | + | + | + | — |
| 10. L . . . . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 11. „ wie 2. . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 12. „ wie 3. . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 13. M. . . . . . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 14. „ wie 2. . . . . . . | „ | — | — | — | — |
| 15. „ wie 3. . . . . . . | „ | — | — | — | — |

Ganz wie bei den positiven Bodensätzen aus aktiven positiven Seren findet man auch hier, daß die WaS durch den Äther in dem einen Falle (J) vollkommen weggenommen wird, während sie in den beiden anderen positiven Cerebrospinalflüssigkeiten hierdurch nur bedeutend vermindert worden ist (G, H). In allen diesen Fällen bringt aber die neue Ätherbehandlung die Reaktion zurück und mit ganz derselben Stärke, die sie vor der Ätherbehandlung hatte. Bei den negativen Cerebrospinalflüssigkeiten dagegen verändert die Ätherbehandlung gar nichts in bezug auf die WaR. Also ganz dasselbe Ergebnis wie bei den Bodensatzlösungen.

## Zusammenfassung und Besprechung meiner oben stehenden Ergebnisse.

Was ergeben nun die angeführten Versuche für das Verständnis der WaR?

Aus den gleich im Anfange beschriebenen Versuchen wird die alte Auffassung bestätigt, daß die Globulinfällung der positiven Sera der Träger der Reaktion ist. Besonders in meinen Dialyseversuchen, wo die Steigerung der Flüssigkeitsmengen oft unbedeutend war, waren die Flüssigkeiten sehr oft glatt negativ in Dosen, die so viel größer als 0,2 ccm waren, wie es dem Verdünnungsgrade entsprach, und in den Bodensatzlösungen nach der Dialyse war es möglich, die WaS quantitativ wiederzufinden. Bei der Fällungsmethode, mit der ich später arbeitete, habe ich gesehen, wie ungeheuer individuell die Sera betreffs ihrer Fällungsmöglichkeiten sind, so daß verschiedene Sera verschiedene Mengen Essigsäure brauchen, um die Globuline und WaS fallenzulassen, und daß man, wenn man eine quantitative Ausfällung wünscht, eine Vortitrierung machen muß. Dies geht ja deutlich aus Tabelle I hervor. Daß, wenn im voraus nicht die erforderliche Säuremenge austitriert wird, sondern nur eine beliebige Menge Säure zugesetzt wird, dabei auch ein Teil der WaS in der Flüssigkeit verbleiben kann, ist selbstverständlich. Bei Verwendung anderer, ähnlicher Säurefällungsmethoden als der meinigen, ist das Verhältnis wahrscheinlich dasselbe, wie es mir jedenfalls bei Verwendung von $^{n}/_{300}$-HCl-Säure als Fällungsmittel vorkommt.

Obgleich also die WaS im großen und ganzen den Globulinen folgt, ist sie selbst doch kein Globulin. Das erfuhr ich bei derjenigen Dialysereihe, wo ich die Dialysierschläuche aus einer gewissen Collodiumlösung bereitete und wo die Dialyse wegen der eigentümlichen Zusammensetzung des genannten Collodiums so verlief, daß aus den Bodensätzen, welche die WaS enthielten, die Globuline mit 0,8 proz. NaCl-Lösung entfernt werden konnten mit Hinterlassung eines kleinen Restes, der auch die WaS quantitativ enthielt.

Meine späteren Versuche haben bestätigt, daß die WaS nicht aus Globulinen aufgebaut ist, und bin ich also in diesem Punkt in Übereinstimmung mit z. B. Sachs[1]), Gloor und Klinger[2])

[1]) Kolloid-Zeitschr. 24.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 29.

und Breinl[1]). Als das Resultat meiner Untersuchungen ergibt sich, die WaS als einen Lipoidstoff zu betrachten.

Diejenigen Versuche, welche hierzu geführt haben, sind mit Äther vorgenommen, doch gaben auch die Alkoholversuche Ergebnisse, welche nicht ganz ohne Bedeutung sind; dagegen blieben die Petroläther- und Acetonversuche erfolglos. Zuerst möchte ich nun mit einigen Worten die Alkoholversuche besprechen. Hier konnte ich erstens die Resultate von Berczeller und Schillinger betreffs der Einwirkung von in verschiedenem Grade verdünntem Ätylalkohol bestätigen und erweitern, indem ich fand, daß diese Alkohollösungen nicht nur die positiven, auf Papier eingetrockneten Sera, sondern auch die positiven Bodensätzen ihrer positiven WaR berauben.

Dann sah ich, daß absoluter, über Natron destillierter Alkohol im Gegensatz zu den verdünnten Alkoholen die WaS der eingetrockneten Sera gar nicht beeinflußte, was aber nicht immer der Fall war, da die Substanz in nichtgelösten, positiven Bodensätzen vorkam. Wurden die Bodensätze gelöst, so zerstörte sie auch der absolute Alkohol; hierbei wurde ja der absolute Alkohol mit der Lösungsflüssigkeit verdünnt und wurde dadurch in seiner Wirkung den verdünnten Alkoholen gleichgestellt. Betreffs der Erklärung für die Einwirkung von absolutem Alkohol auf positive Bodensätze verweise ich auf die Abteilung, wo die Alkoholversuche behandelt worden sind.

Äther ist bekanntlich ein Hämolyticum, das durch Herauslösung von den Lipoiden aus Blutkörperchen Hämolyse bewirkt. Setzt man aber Äther in nicht allzu winzigen Dosen (siehe die Ätherversuche) zu einem aktiven negativen Serum oder schüttelt man ein aktives oder inaktives negatives Serum mit Äther, so hat der Äther eine ganz entgegengesetzte Wirkung, er macht das Serum in der Regel nicht nur positiv, sondern selbsthemmend, stärker bei den aktiven als bei den inaktivierten Seren, und hindert hier also die Hämolyse, anstatt selbst zu hämolysieren. Durch Inaktivieren wird diese Veränderung der Sera doch im allgemeinen rückgängig. Daß der Äther in der Weise wirkt, hängt wahrscheinlich von Dispersitätsveränderungen durch den Äther ab, und daß der Äther tatsächlich eine Dispersitätsänderung hervorzurufen imstande ist, sieht man daraus, daß, wenn z. B.

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. 29.

je ein ccm eines aktiven Serums mit bzw. 0,3, 0,6 und 0,9 ccm Äther versetzt, umgeschüttelt und dann inaktiviert wird, die mit 0,6 ccm Äther versetzte Probe in ein halbfestes Gel übergeht. Bei allen Seren ist die für Gelatinierung erforderliche Ätherdosis allerdings nicht dieselbe aber durch Titrierung ist sie doch leicht zu finden.

Die Verschiedenheit, welche zwischen aktiven und inaktivierten Seren in bezug auf ihre Beeinflußbarkeit durch Äther (siehe die Ätherversuche) vorkommt, zeigt, daß Inaktivieren nicht nur eine Stabilisierung der Globuline bewirkt, sondern daß es auch eine Veränderung der Lipoide mit sich bringt, wodurch diese weniger reaktionsfähig mit anderen Substanzen (Äther) werden.

Weitere Modifikationen betreffs der WaR habe ich durch direkte Äthereinwirkung auf die Sera nicht beobachtet; der hohe Gehalt der Sera an Colloiden verschiedener Art hindert wahrscheinlich den Äther, die Lipolden der Sera kräftiger zu beeinflussen. Wo solche Schutzcolloide nur in sehr beschränkter Menge vorkommen, wie es ja der Fall in der Cerebrospinalflüssigkeit ist, kann deswegen der Äther eine ganz andere Einwirkung auf die WaR positiver Flüssigkeiten ausüben; die Reaktion wird hier mehr oder weniger vom Äther aufgehoben.

Dasselbe Resultat der Ätherbehandlung bekommt man auch da, wo man durch Ausfällen der Globuline und der WaS aus den Seren und nachheriges Lösen der Fällungen diese von der Hauptmasse der in den Seren befindlichen Colloiden befreit hat.

Oft, oder, vielleicht kann ich sagen, am häufigsten. sieht man dabei die WaS nach der Ätherbehandlung ganz verschwinden. Was wird nun aus ihr? Wie ich gesagt habe, ist es mir nicht gelungen, sie im Äther wiederzufinden. Außer denjenigen Versuchen, die unter den Ätherversuchen erwähnt sind, in der Absicht, die Substanz aus dem Äther herauszubekommen, habe ich noch geprüft, ob nicht vielleicht die WaS mit den Ätherdämpfen fortgehen könnte und deshalb nicht in den geprüften Lösungen (siehe die Ätherversuche) vorkäme. Beim Verdampfen solches Äthers, mit welchem positive Bodensatzlösungen negativ gemacht worden waren, habe ich deswegen die Ätherdämpfe gleich durch sowohl negative Bodensatzlösungen, wie durch negative Sera in hohen Röhren geleitet, wodurch also die Dämpfe eine ausgiebige Berührung mit den genannten Flüssigkeiten kamen, ohne

daß doch hierdurch diese Flüssigkeiten nach Inaktivierung sich als positiv erwiesen. Bis jetzt kann ich also die obenstehende Frage betreffs des Schicksals der WaS nicht beantworten.

Es scheint auch nicht sehr wahrscheinlich, daß sie zerstört wird, wenn man bedenkt, daß beim Eindampfen des Äthers zusammen mit einer durch Äther negativ gemachten, vorher positiven Bodensatzlösung die positive Reaktion zurückkehrt.

Dies Wiederauftreten der positiven Reaktion könnte möglicherweise als Folge einer unbekannten Verunreinigung des Äthers von mir gedeutet werden, nachdem Verunreinigungen in Äther tatsächlich gefunden sind, die bei chemischer Analyse nicht entdeckt worden waren und welche eine positive WaR nebst einer geringen Selbsthemmung gaben. Eine solche Deutung ist jedoch kaum möglich, da erstens dasselbe Ergebnis mit zwei von verschiedenen Laboratorien bezogenen, soweit möglich gereinigten Ätherproben erhalten wurde, und zweitens hauptsächlich deshalb, weil keine von diesen Ätherproben negativ Bodensatzlösungen in positive umwandelte, und endlich drittens, da die genannte Einwirkung bei negativ gemachten, vorher positiven Bodensatzlösungen ebenso ausnahmslos war, wie sie ausnahmslos bei ursprünglich negativen Seren fehlte.

Da die Wiederherstellung der positiven Reaktion bei durch Ätherbehandlung negativ gemachten, vorher positiven Bodensatzlösungen oder Cerebrospinalflüssigkeiten nicht aus Verunreinigungen des Äthers hergeleitet werden kann, muß man sich fragen, wie denn der Zusammenhang zu verstehen ist. In denjenigen Fällen, wo positive Bodensatzlösungen mit Äther negativ gemacht sind, der hierfür angewandte Äther dann zusammen mit der behandelten Bodensatzlösung eingedampft wurde und die positive Reaktion zurückkehrte, könnte man sich den Verlauf so vorstellen, daß sich die WaS aus zwei Bestandteilen zusammensetzt: einem ätherlöslichen und einem in Äther nichtlöslichen. Durch die Wiedervereinigung dieser beiden würde die positive Reaktion zurückkehren, nachdem sie durch Ätherbehandlung zunächst verschwunden war. Aber die Tatsache, daß nicht nur solcher Äther mit den positiven Bodensatzlösungen negativ gemacht worden sind, sondern auch ganz neuer, von den

Flaschen eben abgegossener Äther dieselbe restituierende Wirkung betreffs der WaR hat, macht eine Annahme wie die ebengenannte unmöglich.

Ich erkläre mir vorläufig die Ergebnisse in folgender Weise: Die WaS der Sera ist ein Lipoid, das frei in der positiven Seren vorkommt, das aber nicht aus den Seren mit Äther wegen der anwesenden Schutzcolloide herausgelöst werden kann. Kommt sie dagegen in solchen Lösungen vor, die Schutzcolloiden nur in geringer Menge enthalten, wie z. B. Cerebrospinalflüssigkeit oder die oben benutzten Bodensatzlösungen, so gelingt es, die WaS in verschiedenen Graden, je nach dem Gehalt der Flüssigkeiten an Schutzcolloiden, mit Äther zu beeinflussen. Sie wird da entweder gelöst oder vielleicht zerstört, oder was noch das wahrscheinlichste ist, zuerst gelöst und dann zerstört. In den positiven Sera kommt aber zudem die WaS an andere Körper gebunden vor, und diese Form ist im gebundenen Zustande nicht reaktionsfähig, wie wir sie z. B. bei den durch Äther negativ gemachten, vorher positiven Bodensatzlösungen sahen; aber durch die Ätherbehandlung wird die Verbindung gesprengt, und die freigemachte WaS ist dann reaktionsfähig geworden[1]).

Wenn man die WaS für einen Antikörper hält — und dies scheint mir gar nicht unwahrscheinlich — wäre es ja denkbar, daß auch andere Antikörper sich einer gleichen Behandlung gegenüber ähnlich verhielten wie hier die WaS. Untersuchungen hierüber sind im Gange, und ich behalte mir vor, davon bald zu berichten.

Indessen spielt vielleicht noch ein Faktor bei der WaR eine Rolle. Schon früher[2]) ist es beobachtet, daß negative Sera mitunter die positive Reaktion positiver Sera neutralisieren können. Das kann ich auch aus eigener Erfahrung bestätigen, aber ich muß hinzufügen, daß eine solche Neutralisation nur in geringem Umfange vorkommt, so daß nur schwach positive oder entsprechend verdünnte, stark positive Sera durch Mischung mit negativen

[1]) Eine Prüfung, wie die Ätherbehandlung auf die Sachs-Georgische und die Wernickesche Reaktion einwirkt, kann vielleicht das noch unbekannte Verhältnis zwischen der WaR und den genannten Reaktionen aufklären.

[2]) Sellards, Watson, Minot, Richards, Journ. of med. research 1916, zit. nach Zentralbl. f. Bakteriol., Parsitenk. u. Infektionskrankh., Abt. I Ref. 66, 526.

Seren ihre positive Reaktion verlieren, und daß zudem die neutralisierende Eigenschaft des negativen Sera in höchst verschiedenem Grade vorkommt, so daß sie sogar oft nicht nachzuweisen ist. Bei Bodensatzlösungen ist sie dagegen viel leichter zu entdecken, was durch eine Titrierung von positiven und negativen Bodensätzen gelingt.

Ob diese neutralisierende Eigenschaft einer bestimmten Substanz zukommt oder in anderer Weise zu erklären ist, kann ich nicht sagen, aber daß sie, wenn sie überhaupt eine besondere Substanz ist, nicht ätherlöslich ist, habe ich in darauf namentlich gerichteten Versuchen gesehen. Die Gegenwart oder Abwesenheit einer solchen Substanz in positiven Seren kann selbstverständlich bei der positiven Reaktion möglicherweise auch einen Einfluß haben, was schon früher von anderer Seite hervorgehoben worden ist.

Neuerdings hat nun Wassermann selbst mitgeteilt[1]), daß es ihm gelungen ist, die WaS der positiven Sera zu isolieren, wenn auch nicht rein darzustellen. Er geht dabei von der Meineckes Fällung aus, die er in einem alkohollöslichen und einem nichtalkohollöslichen, mehr oder weniger Eiweis enthaltenden Bestandteil zerlegt. Bei Vereinigung dieser beiden Bestandteile bilden sie Komplement, und „versetzt man diese klare“ (letzgenannte) „Flüssigkeit mit Antigen, so verhält sie sich nun völlig wie ein syphilitisches Serum“. Technische Angaben fehlen in den Publikationen völlig, und so ist es unmöglich, über die Bedeutung der Untersuchung sich zu äußern, noch weniger über die theoretischen und auch praktischen Auseinandersetzungen, welche der Autor an diese seine Versuche geknüpft hat. Ich verzichte deswegen darauf. Doch möchte ich unter Berücksichtigung der Ergebnisse, die ich bei meinen eigenen langjährigen Versuchen gewonnen und von denen ich hier Bericht erstattet habe, nur sagen, daß die Verhältnisse bei der WaR sicherlich viel verwickelter sind, als es sich Wassermann zurzeit vorstellt.

## Schlußfolgerungen.

1. Die WaS folgt beim Ausfällen im großen und ganzen den Globulinen.
2. Sie ist aber kein Globulin.

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1921. S. 193 und 331.

3. Die positive WaR wird sowohl in eingetrockneten Seren als in ausgefällten Bodensätzen durch verdünnten Alkohol aufgehoben; von absolutem Alkohol bleibt die WaS dagegen im ein getrocknetem Serum unbeeinflußt, in Bodensätzen oft unbeeinflußt, mitunter wird sie beseitigt. Es ist in denjenigen Fällen, wo die Reaktion verschwindet, nicht gelungen, sie wiederherzustellen.

4. Äther verwandelt negative Sera in positive, diese positive Reaktion wird jedoch beim Inaktivieren wieder negativ. Ebenso verhält es sich mit der Selbsthemmung, die nach der Ätherbehandlung unter gewissen Umständen auftritt.

5. Ätherbehandlung mit Abgießen des Äthers von Cerebrospinalflüssigkeiten oder Bodensatzlösungen beseitigt mehr oder weniger vollständig eine vorhandene positive WaR; Abdampfen des Äthers zusammen mit diesen, durch Äther negativ gemachten, vorher positiven Flüssigkeiten, bringt die positive Reaktion wieder zum Vorschein.

6. Auf negative Cerebrospinalflüssigkeiten oder negative Bodensatzlösungen hat Äther hinsichtlich der WaR keine Einwirkung.

# Neue Klassen von Stimulatoren der alkoholischen Zuckerspaltung.

## VII. Mitteilung über chemisch definierte Katalysatoren der Gärung.

[Vorgetragen und demonstriert in der 1. Juni-Sitzung der Physiologischen Gesellschaft, Berlin 1921.]

Von

**Carl Neuberg, Elsa Reinfurth** und **Marta Sandberg.**

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Institutes für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Den Ausgangspunkt unserer Untersuchungen über chemisch gekennzeichnete Aktivatoren der zellfreien sowie gewöhnlichen alkoholischen Gärung bildete die Beobachtung, daß der ganzen Gruppe von α-Ketosäuren eine beschleunigende Wirkung auf den Ablauf des Gäraktes zukommt[1]). Durch die Kenntnis der zuckerfreien Gärungen, d. h. der Fähigkeit genannter α-Ketosäuren, mit Hefen und Hefezubereitungen in Gärung zu geraten und unter Abspaltung von Kohlendioxyd den nächst niedrigeren Aldehyd zu liefern, waren ohne weiteres die Beziehungen zur Reihe der Aldehyde gegeben. An einem umfangreichen Material, an 76 Aldehyden allerverschiedensten Baues und ungleichsten Molekulargewichtes, haben wir alsdann konstatiert, daß die aktivierenden Wirkungen so ziemlich allen Substanzen zukommen, die mit aldehydischen Funktionen im weitesten Sinne ausgestattet sind. Der Umstand, daß viele Aldehyde so wenig wie die α-Ketosäuren gegen Hefe beständig sind, sondern namentlich bei einer gleichzeitig ablaufenden Zuckerspaltung die „phytochemische Reduktion" zu den entsprechenden Alkoholen erfahren, vermittelte uns einen leitenden Gesichtspunkt für den Versuch, die Wirkungsweise jener Katalysatoren zu deuten. Nach den im Jahre 1911 begründeten und seither durch mehrfache Beweise gestützten Anschauungen nimmt die geistige Gärung ihren Weg über das Glied des Aldehyds, indem der Gärungsäthylalkohol in letzter Phase durch Reduktion des Acetaldehyds, der decarboxy-

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 75. 1915 u. f.; dort auch die Literatur.

lierten Brenztraubensäure, entsteht. Zur Erreichung der Pyruvinat-Acetaldehyd-Stufe ist ersichtlich eine Dehydrierung vonnöten; wir stellten uns vor[1]), daß diese Herauftransponierung auf die Oxydationsstaffel durch Gegenwart eines geeigneten Wasserstoffacceptors erleichtert wird, und erblickten hierin eine vorläufige Erklärung für die universelle Wirksamkeit der Aldehyde oder, was biochemisch auf das gleiche herauskommt, ihrer Carboxy-verbindungen, der $\alpha$-Ketosäuren, aus denen sie mit größter Schnelligkeit auf physiologischem Wege hervorgehen. War diese Begründung annehmbar, so durften wir erwarten, auch mit weiteren von der Hefe mit genügender Leichtigkeit und Geschwindigkeit desoxydierbaren Stoffen einen Aktivatoreffekt zu erzielen. Denn unsere Versuche über die phytochemische Reduzierbarkeit zahlreicher anderer Substanzen besagen nichts anderes, als daß dieselben hydriert werden, also als Wasserstoffempfänger sich betätigen können. In diesen ganzen Komplex von Erscheinungen fügt es sich nun auf das beste, daß, wie wir feststellten, auch die Thioaldehyde, Disulfide, Ketone, Diketone, Chinone, Nitro-, Nitroso- und Hydroxylamino-körper, ja selbst viele anorganische Materialien, die aus einer Oxyd- in eine Oxydulstufe oder in Hydride übergehen können, wirksame Stimulantien der alkoholischen Zuckerspaltung sind. Die Deutung, daß die Aktivatorleistung mit der Acceptoraufgabe der zugesetzten reduzierbaren Verbindungen, z. T. wohl gleichfalls mit dem Ko-ferment[2]) zusammenhängt, haben neuerdings auch Harden und Henley[3]) gegeben, indem sie auf unsere Untersuchungen Bezug nehmen.

Somit war es gelungen, für die in chemischer Beziehung scheinbar allerheterogensten Stoffe eine gemeinsame biochemische Rolle zu finden; aber auch die Erklärung für diese beruht auf einer den genannten Körpern sämtlich zukommenden Eigenschaft, der Reduzierbarkeit. Mit der entwickelten Anschauung steht es im Einklange, daß in Stichproben ein von der Theorie geforderter Verbrauch des Katalysators, eben durch Reduktion, bei aktivierten Gärungen nachgewiesen werden konnte[4]).

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **100**, 302. 1919.

[2]) C. Neuberg und E. Schwenk, diese Zeitschr. **71**, 135. 1915.

[3]) A. Harden und F. R. Henley, Chem. Centralblatt **1921**. I. 37; Biochem. Journ. **15**, 175. 1921

[4]) C. Neuberg und M. Sandberg, diese Zeitschr. **101**, 276. 1920.

Damit heben sich diese Gruppen von chemisch definierten Stimulantien der zellfrei und mit frischen Hefen ausgeführten Gärung aus dem Rahmen sonstiger Katalysatoren heraus. Solche sind zum Teil seit längerer Zeit bekannt. Soweit sie Körper der genannten Reihen enthalten, bietet ihre Betätigungsweise dem Verständnis keine Schwierigkeiten. Unzweifelhaft aber gibt es auch verschiedene Aktivatoren, die nicht sich dem genannten Prinzip unterordnen lassen und deren Wirkungsmechanismus zu ergründen ist.

Nachdem W. Zaleski[1]) darauf hingewiesen hat, daß Extrakte von Trockenhefen oder Malzkeimen die der alkoholischen Gärung verwandte anaerobe Atmung pflanzlicher Objekte stimulieren, hat auf Veranlassung von U. Suzuki 1915 K. Kurono[2]) das Problem der Gärungsaktivierung zuerst bewußt mit der Vitaminfrage in Beziehung gesetzt. Er untersuchte die Wirkung der im Oryzanin enthaltenen Vitamine auf die Ernährung und den Stoffwechsel der niederen Organismen, insbesondere der Hefen; er stellte fest, daß bei der Züchtung zahlreicher Sorten von Kulturhefen in künstlich zusammengesetzten, völlig oryzaninfreien Flüssigkeiten das Vitamin eine bedeutend fördernde Kraft sowohl auf das Wachstum als auf die Vergärung ausübt. Dabei übertraf das Vitamin sonst als begünstigend angesehene Substanzen wie Peptone und Salze ganz erheblich. An Stelle von Oryzanin konnte Kurono mit ähnlichem Erfolge die extrahierbaren Vitamine der Kleie oder Hefe benutzen. Die längst bekannte Tatsache, daß Malzkeime. Haspeln, Kleieabfälle u. dgl. die Gärung beschleunigen, d. h. die Aufgabe der sog. „indifferenten" Stoffe, führte Kurono von dem bis dahin angenommenen mechanischen Effekt auf Vitaminleistungen zurück, indem z. B. die Extraktion mit Alkohol, der die physikalische Beschaffenheit jener Zusätze kaum ändert, den „indifferenten" Stoffen ihr Stimulierungsvermögen nahm, während ihre Auszüge kräftig wirksam waren. In 0,1% Oryzanin enthaltender Lösung entwickelten sich verschiedene Hefen 6—10 mal schneller als in den Kontrollen; der Erfolg war direkt proportional dem Oryzaningehalte. Die Einflüsse machten sich am deutlichsten bei kleiner Aussaat geltend, weil in der Hefe selbst Vitamin vorkommt, das bei beträchtlicher Zellenzahl zur Äußerung gelangt. Kurono zeigte ferner, daß sich die Unterschiede in vitaminhaltigen und vitaminfreien Proben nach einiger Zeit ausgleichen. Durch Ermittlung der Kohlensäure in Intervallen konstatierte er, daß die „Vitamingärung" schneller verlief und beim Abbruch am 6. Tage zugleich weiter fortgeschritten war. Aus einer von ihm angeführten Tabelle kann man entnehmen, daß die Beschleunigung der Kohlendioxyderzeugung namentlich in der ersten Zeit, wo ein Zellenzuwachs nicht in Betracht kommt, eintrat und sich dann mehr verwischte, indem später auch die ursprünglich oryzaninfreien Flüssigkeiten stärker umgesetzt wurden Nicht nur für reine Zuckerlösungen, sondern auch für kompliziertere

[1]) W. Zaleski, Ber. d. dtsch. botan. Ges. 31, 354. 1913.

[2]) K. Kurono, Journ. of the College of Agricult. Imp. Univers. of Tokio 5, 305. 1915, vgl. auch Wochenschr. f. Brauerei 36, 259. 1919.

Substrate, wie Melassen, hat Kurono den rascheren Eintritt der Schaumentwicklung, der Absatzbildung sowie Vergärung in Gegenwart von Vitaminen beschrieben. Unbewußt hatten sich schon früher zahlreiche Autoren desselben Prinzips bedient, um schwer angreifbare Kohlenhydrate in Gärung zu versetzen; z. B. sind E. O. v. Lippmann (1887), B. Tollens und Stone (1888), E. Fischer und Mitarbeiter (1892 und 1894), A. Bau (1894), P. Lindner (1901) u. a. bei der d-Galaktose und E. Buchner und J. Meisenheimer (1910) beim Dioxyaceton so vorgegangen. Seitdem ist eine größere Reihe von Untersuchungen über den Einfluß der Vitamine bzw. Gewebsextrakte auf die Hefezellen und die Vergärung angestellt worden. Aus den älteren Untersuchungen von Bendix (Organbestandteile), Harden (Serum), Buchner und Rapp (Hefedekokt) und den neueren von Slator, Atherton Seidell, Abderhalden und Schaumann, Fränkel und Schwarz, Euler und Mitarbeiten, Meyerhof, Schweizer, Funk und Dubbin, Bachmann, Eddy und Stevenson, Osborne, Mendel, Wakeman, Emmett und Stockholm, Williams, Fulmer, Nelson, Cessna, Sherwood u. a. ergibt sich gleichmäßig die günstige Wirkung der Vitamine sowohl auf das Wachstum als auf die Gärfähigkeit der Hefen.

Die Genannten haben in das Bereich der Untersuchungen so ziemlich alle Materialien tierischen und pflanzlichen Ursprungs gezogen, die als Träger von Vitaminen bekannt sind. Bevor das wichtige Problem der Reindarstellung oder Charakterisierung von Vitaminen nicht gelungen ist, dürfte auch die Frage mit Unsicherheit behaftet bleiben, welche funktionellen Gruppen der Vitamine für das Zustandekommen der Gärungsförderung verantwortlich zu machen sind.

Man muß zugleich mit der Möglichkeit rechnen, daß bei der Verwendung von Autolysaten oder Extrakten animalischer und vegetabilischer Provenienz außer den eigentlichen Vitaminen Körper von chemisch mehr alltäglicher Natur beteiligt sind. Daß Carbonylverbindungen (Ketosäuren, Aldehyde Ketone, Diketone und Chinone bzw. chinoide Farbstoffe usw.) einen Anteil nehmen können, darf bei dem allgemeinen Vorhandensein dieser Stoffe in der Natur in Betracht gezogen werden. Daneben sind vor allem auch die Disulfide nicht außer acht zu lassen, wie sie beispielsweise im Cystin und den Cystin-peptiden und -polypeptiden ebenfalls häufig vorkommen.

Überlegt man sich nun, welche Substanzen noch in tierischen und pflanzlichen Materialien oft auftreten und von denen ihrer Struktur nach ein Aktivatoreffekt ausgehen könnte, so stößt man auf die reichgegliederte und weitverbreitete Gruppe der Purine. Die Zellarten enthalten zum mindesten in Form der Kernsubstanzen Alloxurkörper, und im dissimilatorischen Stoffwechsel erscheinen

diese dann als Spaltungsprodukte der Nucleinsäuren frei oder in kleineren Molekülverbänden. Auch Produkte der Desaminierung, der Oxydation, der Alkylierung und Entmethylierung von Purinen sind in Geweben und Exkreten vielfach zugegen.

Dieses Gebiet scheint bislang gar nicht bearbeitet zu sein. In der Tat haben nun sämtliche von uns geprüften Purinabkömmlinge sich ausnahmslos als Aktivatoren der Gärung erwiesen, und zwar sowohl in freiem Zustande wie als Salze und in Form der Puringlucoside, die nach den Untersuchungen von P. A. Levene und W. Jacobs nebst anderen als letzte Vorstufen der Purine selbst beim Abbau der Nucleinsubstanzen entstehen.

Genau wie bei unseren früheren Untersuchungen über die chemisch definierten Katalysatoren der Gärung verfuhren wir auch im vorliegenden Falle, d. h. wir arbeiteten mit Macerationssäften, da hierdurch mit größter Sicherheit eine irgendwie vom Zellenbau abhängige Wirkung ausgeschlossen wird; denn Zellelemente mit ihren unübersehbaren Einflüssen sind nicht nur in frischen Hefen vorhanden, sondern auch noch in Dauerpräparaten erhalten und befähigt, zur Geltung zu kommen. Den Stimulationseffekt konstatierten wir bei Adenin, Hypoxanthin, Xanthin, Guanin, Heteroxanthin, 8-Methylxanthin, Paraxanthin (1,7-Dimethylxanthin), Theobromin, Theophyllin, Coffein, Tetramethylxanthin, Trichlortetramethylxanthin und Tetrachlortetramethylxanthin, ferner bei den Nucleosiden Adenosin und Guanosin. Nicht so regelmäßig und keineswegs so stark und zumeist auch spät wirkten die Nucleinsäuren selber, von denen wir die Hefenucleinsäure, Milznucleinsäure, Nucleinsäure aus Fischsperma, Thymusnucleinsäure sowie Inosinsäure herangezogen haben. Andererseits zeigten bestimmte Abbauprodukte der Purine, die mit ihnen in naher Beziehung stehen, wieder einen deutlichen Einfluß, wie Alloxantin, Mesoxalsäure und Allantoin. Erwähnen möchten wir, daß auch das höchstoxydierte Purinderivat des tierischen Stoffwechsels, die Harnsäure, als solche und in Form ihrer Salze eine Gärungsbeschleunigung auslösen kann.

Es erhebt sich nun die Frage, ob sich hierbei die erwähnten Körper im Sinne der von uns früher untersuchten chemisch definierten Aktivatoren als Wasserstoffempfänger (bzw. Cofermentverstärker) betätigen. Vornehmlich durch die Untersuchungen von Emil

Fischer, Ach, Tafel und H. Biltz wissen wir, daß die Purine in verschiedenster Weise reduzierbar sind, sowohl an Doppelbindungen als an Carbonylgruppen. Für die Reduzierbarkeit des sauerstofffreien Adenins liegt eine der ältesten hierhin gehörigen Beobachtungen vor, die A. Kossel[1]) (1888) gemacht hat. Auch Alloxantin[2]), dem Chinhydroncharakter zuerteilt ist, Mesoxalsäure und Allantoin können als desoxydierbare Körper betrachtet werden. Wir wollen jedoch keine endgültige Meinung über diesen Punkt äußern und uns auf den Hinweis beschränken, daß eine große Gruppe weitverbreiteter und chemisch charakterisierter Naturprodukte, die insbesondere zu den auf alle mögliche Weise erhältlichen Extraktivstoffen zählen und zum Teil mit den eigentlichen Vitaminen wandern, Gärungsaktivatoren darstellen und bis zu mehreren Hundert Prozenten die Geschwindigkeit der $CO_2$-Abgabe steigern können. Die Untersuchung, die bisher an Zymaselösungen ausgeführt ist und also den Einfluß auch dieser neuen Klasse von Aktivatoren auf das Gärungsferment selbst enthüllt hat, wird auszudehnen sein auf die den Purinen verwandten Pyrimidine, ferner auf das Verhalten der Purinderivate zu lebenden wie in den Dauerzustand übergeführten Hefen.

Daß eine kombinierte Wirkung, d. h. eine solche, die sowohl an die Rolle der Vitamine als an die der chemisch definierten Katalysatoren gemahnt, möglich ist, zeigen einige Befunde, die wir mit anderen Substanzen erhoben haben und vorläufig nur streifen wollen[3]). Wir sahen, daß Abietinsäure, Copaivasäure, Naphtensäure und einzelne Gallensäuren, welch letztere bei lebender Hefe hemmten, die zellfreie Gärung stimulieren können. Ebenso bemerkten wir, daß die Saponine, und zwar Cyclamin, Digitonin, Verodigen, Saponin (Merck) und Rübenharzsäure in Ansätzen mit Hefensaft beschleunigen. Wir können die sehr interessante Beobachtung von Fr. Boas[4]) bestätigen, daß Saponin (Merck) die Zuckerspaltung durch frische Hefe anregt. Es zeigt sich nun, daß hiermit wie durch andere Saponine die zellfreie Gärung, wo die vom genannten Forscher beschriebene Beeinflussung auf dem

[1]) A. Kossel, H. 12, 248. 1888.

[2]) R. Willstätter und J. Piccard, B. 41, 1464. 1908.

[3]) Hierauf wie auf die merkwürdige gärungsfördernde Wirkung einiger Kohlensorten und diverse Adsorbentien behalten wir uns vor, später zurückzukommen.

[4]) Fr. Boas, diese Zeitschr. 117, 166. 1921.

Wege über die Plasmahaut entfällt, ebenfalls, obzwar schwächer, gefördert wird, so daß wohl auch der Saponineffektnicht einheitlicher Natur zu sein braucht. Bei einigen dieser Substanzen, die wie die Saponine Komplexe von Zuckern oder Kohlenhydratsäuren einschließen, wird man an eine Beteiligung von Carbonylgruppen unter Umständen denken können. Bei den hydroaromatischen Säuren dagegen ist eine solche Erklärung nicht möglich; in anderen Fällen könnte eine Anlagerung von Wasserstoff an Doppelbindungen[1]) von Belang sein, ohne daß eine solche aber bisher nachgewiesen ist.

## Experimenteller Teil.

Die Versuche wurden so angeordnet, wie es in unseren verschiedenen früheren Mitteilungen schon eingehend beschrieben worden ist.

### A. Ansätze mit Substanzen aus der Purinreihe.

#### 1. Versuche mit Adenin.

a) Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

α) 15,0 ccm Saft und 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, als Kontrolle:

| Temperatur 23° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 0,0 | 0,2 | 0,6 | 1,5 | 2,8 | 4,2 | 6,7 | 7,8 | 8,8 | 9,9 | 10,7 | 12,2 | 17,2 | 19,1 | 20,2 | 21,0 | 23,0 | 27,3 |

β) 15,0 ccm Saft, 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, 0,05 g Adenin:

| Temperatur 23° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 0,2 | 2,3 | 8,2 | 13,0 | 18,3 | 19,3 | 21,3 | 22,2 | 23,3 | 24,1 | 24,3 | 25,5 | 26,5 | 27,2 | 28,2 | 28,6 | 29,4 | 30,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,2 | 2,1 | 7,6 | 11,5 | 15,5 | 15,1 | 14,6 | 14,4 | 14,5 | 14,2 | 13,6 | 13,3 | 9,3 | 8,1 | 8,0 | 7,6 | 6,4 | 3,2 |

b) Saft aus Unterhefe Schultheiß.

γ) 15,0 ccm Saft und 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, als Kontrolle:

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |

[1]) Sie ist schließlich a priori nicht unwahrscheinlicher als der umgekehrte Vorgang der Dehydrierung, der für die physiologische Oxydation von Bernsteinsäure (zu Fumarsäure) von Battelli und Stern, Thunberg sowie Einbeck angegeben worden ist.

δ) 15,0 ccm, 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, 0,05 g Adenin:

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 6,0 | 11,1 | 17,2 | 20,7 | 22,2 | 24,1 | 27,8 | 30,2 | 31,5 | 33,1 | 38,6 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 5,6 | 9,9 | 13,3 | 14,5 | 14,6 | 14,1 | 12,4 | 10,1 | 7,6 | 5,7 | 2,7 |

c) Saft aus Patzenhofer Hefe.

ε) 15,0 ccm Saft und 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, als Kontrolle:

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 155′ | 190′ | 220′ | 265′ | 310′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 1,0 | 2,5 | 4,5 | 7,5 | 10,0 | 12,6 | 15,0 | 17,4 | 19,6 | 21,5 | 22,4 | 29,0 |

ζ) 15,0 ccm Saft, 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung, 0,05 g Adenin:

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 155′ | 190′ | 220′ | 265′ | 310′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 2,0 | 6,0 | 8,8 | 12,8 | 16,2 | 18,9 | 21,7 | 24,4 | 26,3 | 27,7 | 28,7 | 36,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,0 | 3,5 | 4,3 | 5,3 | 6,2 | 6,3 | 6,7 | 7,0 | 6,7 | 6,2 | 6,3 | 7,8 |

d) Saft aus Hefe Senst.

η) Analog ε), als Kontrolle:

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 24,7 | 35,2 |

ϑ) Analog ζ), mit 0,05 g Adenin:

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 1200′ |
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 3,1 | 6,3 | 9,8 | 14,7 | 19,3 | 22,2 | 23,9 | 26,4 | 27,3 | 27,9 | 28,4 | 36,9 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,9 | 3,7 | 4,9 | 6,9 | 7,2 | 6,1 | 6,0 | 4,2 | 4,1 | 3,9 | 3,7 | 1,7 |

Das Adenin erwies sich folglich als ein sehr guter Aktivator; am meisten kam seine stimulierende Wirkung bei den 2 ersten Säften zum Ausdruck.

---

In allen folgenden Fällen wurde nach demselben Schema: 15,0 ccm Hefensaft, 1,0 ccm 25 proz. Glucoselösung und 0,05 g Aktivator, bzw. ohne Aktivator für die Kontrolle, verfahren.

Zur Raumersparnis wird das Resultat stets in tabellarischen Übersichten wiedergegeben und auf graphische Darstellungen (s. unsere voraufgehenden Mitteilungen) verzichtet.

### 2. Versuche mit Hypoxanthin.

a) Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 95′ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 1,1 | 2,4 | 4,3 | 6,4 | 8,8 | 10,8 | 16,2 | 19,5 | 21,1 | 22,2 | 31,6 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,8 | 5,3 | 10,1 | 13,5 | 17,5 | 20,6 | 22,2 | 26,1 | 28,0 | 29,0 | 29,7 | 33,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,8 | 4,2 | 7,7 | 9,2 | 11,1 | 11,8 | 11,4 | 9,9 | 8,5 | 7,9 | 7,5 | 2,1 |

b) Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 20° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 145′ | 205′ | 265′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,6 | 1,5 | 3,8 | 6,5 | 9,7 | 11,8 | 20,0 | 22,8 | 24,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 2,8 | 5,3 | 8,8 | 13,2 | 16,0 | 19,1 | 20,7 | 26,2 | 28,2 | 30,0 | 36,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,8 | 4,7 | 7,3 | 9,4 | 9,5 | 9,4 | 8,9 | 6,2 | 5,4 | 5,8 | 10,3 |

Es geht aus den Tabellen hervor, daß das Hypoxanthin ein starkes Stimulans ist, das in Versuch b) selbst nach 20 Stunden noch ein Mehr an $CO_2$ von 10,3 ccm aufwies.

### 3. Versuche mit Xanthin.

a) Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 55′ | 65′ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 120′ | 155′ | 185′ | 225′ | 255′ | 300′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 1,7 | 4,7 | 9,0 | 11,0 | 13,1 | 14,2 | 16,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,7 | 1,0 | 2,8 | 6,1 | 8,3 | 11,1 | 12,3 | 14,7 | 16,3 | 17,7 | 18,2 | 18,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,7 | 1,0 | 2,8 | 5,9 | 7,6 | 9,4 | 7,6 | 5,7 | 5,3 | 4,6 | 4,0 | 2,3 |

b) Mit demselben Saft wie a), bei anderer Temperatur.

| Temperatur 18° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 145′ | 205′ | 265′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,9 | 2,9 | 5,9 | 9,5 | 12,7 | 14,2 | 20,5 | 22,5 | 31,1 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,6 | 1,2 | 2,2 | 4,2 | 7,1 | 10,0 | 13,1 | 14,8 | 19,6 | 30,1 | 39,0 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,6 | 1,2 | 1,3 | 1,3 | 1,2 | 0,5 | 0,4 | 0,6 | −0,9 | 7,6 | 7,9 |

Das Xanthin beschleunigte bei höherer Temperatur besser als bei niederer; im letzten Falle trat der Stimulationseffekt erst nach 4¹/₂ Stunden klar zutage.

### 4. Versuche mit Guanin
und zwar a) als Chlorhydrat, b) als Sulfat, c) als freie Base.

a) Guaninchlorhydrat mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 285′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |
| Aktivator-Ansatz . | 6,8 | 11,4 | 18,8 | 22,5 | 23,9 | 25,9 | 29,1 | 31,1 | 32,3 | 34,2 | 39,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 6,4 | 10,2 | 14,9 | 16,3 | 16,3 | 15,9 | 13,7 | 11,0 | 8,4 | 6,8 | 3,9 |

b) Guaninsulfat mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 4,8 | 10,3 | 16,3 | 17,8 | 18,3 | 18,7 | 20,7 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,8 | 1,9 | 4,3 | 7,6 | 12,5 | 16,8 | 20,8 | 24,9 | 25,8 | 27,3 | 27,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,5 | 1,6 | 4,0 | 7,3 | 7,7 | 6,5 | 4,5 | 7,1 | 7,5 | 8,6 | 7,1 |

c) Freies Guanin mit Saft aus Hefe Engelhardt.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 320′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 24,7 | 25,6 | 35,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 3,6 | 7,8 | 12,3 | 16,4 | 20,6 | 23,4 | 24,6 | 27,0 | 27,8 | 28,7 | 29,3 | 30,4 | 38,1 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,4 | 5,2 | 7,4 | 8,6 | 8,5 | 7,3 | 6,7 | 4,8 | 4,6 | 4,7 | 4,6 | 4,8 | 2,9 |

Bei sämtlichen 3 Formen ist eindeutig die beschleunigende Wirkung des Guanins zu erkennen; am stärksten wirkte das salzsaure Salz.

Von den bisher erwähnten einfachen Purinen haben wir mit praktisch gleichem Ergebnis sowohl die Naturprodukte (Adenin aus Thee, Guanin aus Pankreasnucleoproteid, Hypoxanthin aus Fleischextrakt und aus Guanin bereitetes Xanthin) als auch synthetische Materialien verwendet, die wir dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Prof. W. Traube - Berlin und der Firma C. F. Boehringer & Söhne in Mannheim-Waldhof verdanken.

**5. Versuche mit Heteroxanthin[1]).**

**a) Mit Saft aus Patzenhofer Hefe.**

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 155′ | 190′ | 220′ | 265′ | 310′ | 380′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . | 1,0 | 2,5 | 4,5 | 7,5 | 10,0 | 12,6 | 15,0 | 17,4 | 19,6 | 21,5 | 22,4 | 23,3 | 29,0 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,8 | 2,4 | 5,1 | 8,3 | 11,7 | 14,6 | 17,7 | 20,4 | 22,6 | 24,5 | 25,6 | 26,8 | 34,3 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −0,2 | −0,1 | 0,6 | 0,8 | 1,7 | 2,0 | 2,7 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 3,2 | 3,5 | 5,3 |

**b) Mit Saft aus Sensthefe.**

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 320′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 24,7 | 25,6 | 35,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 2,3 | 4,1 | 7,9 | 13,0 | 17,3 | 21,7 | 22,8 | 24,5 | 25,2 | 26,3 | 26,7 | 27,4 | 36,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,1 | 1,5 | 3,0 | 5,2 | 5,2 | 5,6 | 4,9 | 2,3 | 2,0 | 2,3 | 2,0 | 1,8 | 1,6 |

Das Heteroxanthin, das als Abbauprodukt mehrfach methylierter Purine im Tier- und allem Anscheine nach auch im Pflanzenkörper auftritt, entfaltet einen aktivierenden Einfluß.

**6. Versuch mit 8-Methylxanthin.**

Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . | 1,0 | 2,2 | 5,2 | 9,7 | 13,4 | 15,6 | 19,9 | 22,9 | 24,5 | 33,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,4 | 5,0 | 9,7 | 14,1 | 18,8 | 21,2 | 25,8 | 28,5 | 29,8 | 37,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,4 | 2,8 | 4,5 | 3,4 | 5,4 | 5,6 | 5,9 | 5,6 | 5,3 | 3,7 |

Die Gärförderung durch die beiden Mono-methyl-xanthine war deutlich, wenn auch nicht besonders stark.

**7. Versuche mit Paraxanthin** (synthetisch).

Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 120′ | 155′ | 185′ | 225′ | 255′ | 300′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 1,7 | 4,7 | 9,0 | 11,0 | 13,1 | 14,2 | 16,5 | 29,1 |
| Aktivator-Ansatz. . | 1,5 | 2,8 | 4,9 | 8,7 | 13,6 | 18,2 | 20,8 | 22,7 | 23,6 | 24,7 | 32,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,5 | 2,6 | 4,2 | 7,0 | 8,9 | 9,2 | 9,8 | 9,6 | 9,4 | 8,2 | 3,7 |

[1]) Präparat nach G. Salomon und C. Neuberg, Salkowski-Festschrift 1904, S. 37; vgl. R. Gottlieb und St. Bondzynski, B. 28, 1118.

Diese seltene, durch physiologische (wie auch chemische) Entmethylierung des Coffeins entstehende Alloxurbase erweist sich als Gärungsstimulans.

### 8. Versuche mit Theobromin[1]).

a) Mit Saft aus Schultheißhefe.

| Temperatur 28° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . . . | 0,0 | 0,2 | 0,6 | 1,5 | 2,8 | 4,2 | 6,7 | 7,8 | 8,8 | 9,9 | 10,7 | 12,2 | 17,2 | 19,1 | 20,2 | 21,0 | 22,1 | 23,0 | 27,3 |
| Aktivator-Ansatz . . | 1,0 | 2,4 | 7,4 | 11,5 | 16,4 | 18,6 | 20,4 | 21,2 | 22,2 | 22,9 | 23,7 | 24,5 | 25,5 | 26,3 | 27,2 | 27,7 | 28,7 | 29,5 | 33,3 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,0 | 2,2 | 6,8 | 10,0 | 13,6 | 14,4 | 13,7 | 13,4 | 13,4 | 13,0 | 13,0 | 12,3 | 8,3 | 7,2 | 7,0 | 6,7 | 6,6 | 6,5 | 6,0 |

b) Mit demselben Saft wie a), bei höherer Temperatur.

| Temperatur 20° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 145′ | 205′ | 265′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,6 | 1,5 | 3,8 | 6,5 | 9,7 | 11,8 | 20,0 | 22,8 | 24,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz. . | 2,9 | 5,5 | 9,2 | 13,4 | 16,7 | 19,7 | 21,2 | 26,6 | 28,7 | 30,6 | 32,9 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,9 | 4,9 | 7,7 | 9,6 | 10,2 | 10,0 | 9,4 | 6,6 | 5,9 | 6,4 | 6,4 |

c) Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |
| Aktivator-Ansatz. . | 5,5 | 10,8 | 18,3 | 21,3 | 22,9 | 24,8 | 27,9 | 30,0 | 31,2 | 33,2 | 38,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 5,1 | 9,6 | 14,4 | 15,1 | 15,3 | 14,8 | 12,5 | 9,9 | 7,3 | 5,8 | 2,6 |

d) Mit demselben Saft wie c), bei niedrigerer Temperatur.

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,3 | 1,3 | 4,6 | 9,2 | 11,7 | 13,6 | 16,4 | 28,3 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,9 | 4,9 | 12,0 | 16,8 | 18,5 | 19,9 | 22,0 | 32,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,6 | 3,6 | 7,4 | 7,6 | 6,8 | 6,3 | 5,6 | 3,9 |

Es ist aus den Versuchen a—d ersichtlich, daß **Theobromin** ein kräftiger Aktivator ist; die Beschleunigung durch diesen Stoff macht sich bei denselben Säften bei höherer Temperatur stärker bemerkbar.

[1]) Hier und im folgenden sind, sofern nichts anderes vermerkt ist, die käuflichen Produkte benutzt.

## 9. Versuche mit Theophyllin.

a) Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur. 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 95′ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,6 | 2,4 | 5,7 | 9,0 | 12,6 | 16,4 | 18,1 | 21,3 | 23,5 | 24,5 | 25,4 | 26,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 2,3 | 7,5 | 10,8 | 13,7 | 16,0 | 18,3 | 19,9 | 23,0 | 24,8 | 25,8 | 26,3 | 26,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,7 | 5,1 | 5,1 | 4,7 | 3,4 | 1,9 | 1,8 | 1,7 | 1,3 | 1,3 | 0,9 | 0,5 |

b) Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 20° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 145′ | 205′ | 265′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,6 | 1,5 | 3,8 | 6,5 | 9,7 | 11,8 | 20,0 | 22,8 | 24,2 | 26,5 |
| Aktivator Ansatz . | 1,4 | 3,5 | 7,3 | 11,7 | 14,5 | 17,3 | 18,4 | 23,1 | 24,4 | 25,7 | 31,4 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,4 | 2,9 | 5,8 | 7,9 | 8,0 | 7,6 | 6,6 | 3,1 | 1,6 | 1,5 | 4,9 |

## 10. Versuche mit Coffein.

a) Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 23° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 6,7 | 7,8 | 8,8 | 9,9 | 10,7 | 12,2 | 17,2 | 19,1 | 20,2 | 21,0 | 22,1 | 23,0 | 27,3 |
| Aktivator-Ansatz . | 6,7 | 9,5 | 11,6 | 13,3 | 14,6 | 16,7 | 19,9 | 21,1 | 22,4 | 23,2 | 24,2 | 25,4 | 28,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,0 | 1,7 | 2,8 | 3,4 | 3,9 | 4,5 | 2,7 | 2,0 | 2,2 | 2,2 | 2,1 | 2,4 | 0,9 |

b) Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 95′ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 1,1 | 2,4 | 4,3 | 6,4 | 8,8 | 10,8 | 16,2 | 19,5 | 21,1 | 22,2 | 22,9 | 31,6 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,3 | 6,8 | 10,1 | 12,8 | 15,0 | 17,1 | 18,8 | 22,6 | 24,2 | 25,1 | 25,9 | 26,5 | 32,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,3 | 5,7 | 7,7 | 8,5 | 8,6 | 8,3 | 8,0 | 6,4 | 4,7 | 4,0 | 3,7 | 3,6 | 1,1 |

Gäransätze mit Saft aus Sensthefe wurden durch die drei letzterwähnten methylierten Purine erheblich schwächer beeinflußt.

## 11. Versuch mit Tetramethylxanthin (Boehringer).

Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 85′ | 95′ | 100′ | 105′ | 110′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 2,2 | 5,2 | 9,7 | 13,4 | 15,6 | 19,9 | 22,9 | 24,5 | 25,7 | 26,4 | 33,5 |
| Aktivator-Ansatz . . | 1,0 | 3,5 | 11,3 | 15,5 | 18,7 | 20,9 | 23,1 | 24,7 | 28,0 | 29,6 | 30,4 | 31,1 | 31,5 | 35,9 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,0 | 3,5 | 10,3 | 13,3 | 13,5 | 11,2 | 9,7 | 9,1 | 8,1 | 6,7 | 5,9 | 5,4 | 5,1 | 2,4 |

**12. Versuch mit Tri-chlor-tetramethyl-xanthin[1]) (Boehring**
**Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.**

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 65′ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 120′ | 155′ | 185′ | 225′ | 255′ | 300′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 1,7 | 4,7 | 9,0 | 11,0 | 13,1 | 14,2 | 16,5 | 29,1 |
| Aktivator-Ansatz. . | 0,6 | 2,2 | 6,0 | 8,7 | 12,9 | 17.0 | 21,0 | 22,8 | 24,5 | 25,2 | 26.0 | 33,0 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,6 | 2,2 | 5,8 | 8,0 | 11,2 | 12,3 | 12,0 | 11,8 | 11,4 | 11,0 | 9,5 | 3,9 |

**13. Versuch mit Tetra-chlor-tetramethyl-xanthin[2]) (Boehringer).**
**Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.**

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 65′ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 120′ | 155′ | 185′ | 225′ | 255′ | 300′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 1,7 | 4,7 | 9,0 | 11,0 | 13,1 | 14,2 | 16,5 | 29,1 |
| Aktivator-Ansatz. . | 0,3 | 1,4 | 4,4 | 7,4 | 11,6 | 16,0 | 17,9 | 22,0 | 23,6 | 24,4 | 25,1 | 33,1 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,3 | 1,4 | 4,2 | 6,7 | 9,9 | 11,3 | 8.9 | 11,0 | 10,5 | 10,2 | 8,6 | 4,0 |

**14. Versuche mit Harnsäure und Uraten.**

**Die Versuche wurden teils mit freier Harnsäure, teils mit ihrem Kalium- und Natriumsalz sowie Säften aus verschiedenen Hefen durchgeführt.**

**a) Harnsäure mit Saft aus Patzenhofer Hefe.**

| Temperatur 23° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . . | 0,0 | 0,2 | 0,6 | 1,5 | 2,8 | 4,2 | 6,7 | 7,8 | 8,8 | 9,9 | 10,7 | 12,2 | 17,2 | 19,1 | 20,2 | 21,0 | 22,1 | 23,0 | 27,3 |
| Aktivator-Ansatz . . | 0,3 | 0,9 | 2,0 | 5,0 | 7,2 | 11,2 | 14,0 | 15,7 | 17,4 | 18,5 | 19,2 | 20,3 | 22,0 | 23,0 | 23,7 | 24,2 | 25,7 | 27,5 | 31,4 |
| Beschleunigung gegenüber der Kontrolle . | 0,3 | 0,7 | 1,4 | 3,5 | 4,4 | 7,0 | 7,3 | 7,9 | 8,6 | 8,6 | 8,5 | 8,1 | 4,8 | 3,9 | 3,5 | 3,2 | 3,6 | 4,5 | 4,1 |

[1]) Die Verbindung hat die Formel:

$$
\begin{array}{l}
CH_3 \cdot N\!-\!CO \\
\quad\;\; | \qquad | \\
\quad\; CO \quad C\!-\!N\!\!<^{CH_3}_{\;} \\
\quad\;\; | \qquad \| \qquad\quad >C \cdot CCl_3 . \\
CH_3 \cdot N\!-\!C\!-\!N
\end{array}
$$

[2]) Die Substanz besitzt die Formel:

$$
\begin{array}{l}
CH_3 \cdot N\!-\!CO \\
\quad\;\; | \qquad | \\
\quad\; CO \quad C\!-\!N\!\!<^{CH_2Cl}_{\;} \\
\quad\;\; | \qquad \| \qquad\quad >C \cdot CCl_3 \\
CH_3 \cdot N\!-\!C\!-\!N
\end{array}
$$

(Vgl. Friedländer, Patentsammlung Nr. 146714 und 146715.)

b) Harnsäure mit Saft aus Hefe Senst.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 40′ | 55′ | 80′ | 110′ | 140′ | 170′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,8 | 4,3 | 7,3 | 13,5 | 17,9 | 21,6 | 24,5 | 26,6 | 27,7 | 28,4 | 29,2 | 39,6 |
| Aktivator-Ansatz . | 3,8 | 9,8 | 13,3 | 18,5 | 21,8 | 24,3 | 26,9 | 29,3 | 30,3 | 31,4 | 32,6 | 42,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,0 | 5,5 | 6,0 | 5,0 | 3,9 | 2,7 | 2,4 | 2,7 | 2,6 | 3,0 | 3,4 | 2,9 |

Die Vergärung mit erstgenanntem Saft wird anscheinend durch diese Säure besser gefördert.

c) Harnsaures Natrium mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 25° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 60′ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 160′ | 190′ | 220′ | 250′ | 310′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . . | 0,0 | 1,8 | 4,0 | 7,0 | 10,2 | 12,5 | 13,9 | 14,8 | 17,2 | 19,3 | 21,8 | 23,6 | 25,7 | 30,4 | 53,3 |
| Aktivator-Ansatz . . | 0,7 | 2,4 | 10,6 | 16,0 | 21,0 | 24,5 | 25,6 | 26,6 | 27,4 | 29,0 | 30,6 | 33,0 | 35,1 | 38,7 | 57,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,7 | 0,6 | 6,6 | 9,0 | 10,8 | 12,0 | 11,7 | 11,7 | 10,2 | 9,7 | 8,8 | 9,4 | 9,4 | 8,3 | 3,9 |

d) Harnsaures Natrium mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 18° | Zeiten nach | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 4,8 | 10,3 | 16,3 | 17,8 | 18,3 | 18,7 | 20,7 | 33,1 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,2 | 2,1 | 21,5 | 26.1 | 28,1 | 29,1 | 29,7 | 35,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −4,6 | −8,2 | +5,2 | 8,3 | 9,8 | 10,4 | 9,0 | 2,6 |

e) Harnsaures Natrium mit demselben Saft wie bei d), bei höherer Temperatur.

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,2 | 2,3 | 4,9 | 9,6 | 16,3 | 20,7 | 25,6 | 28,7 | 29,8 | 30,9 | 37,3 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,8 | 1,1 | 1,0 | 3,4 | 8,7 | 10,7 | 10,2 | 8,6 | 5,9 | 3,5 | 1,4 |

f) Harnsaures Kalium mit Saft aus Hefe Senst.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 40′ | 55′ | 80′ | 110′ | 140′ | 170′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,8 | 4,3 | 7,3 | 13,5 | 17,9 | 21,6 | 24,5 | 26,6 | 27,7 | 28,4 | 29,2 | 39,6 |
| Aktivator-Ansatz . | 4,2 | 9,5 | 13,0 | 18,8 | 23,5 | 26,0 | 28,6 | 31,0 | 32,1 | 33,0 | 34,1 | 44,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,4 | 5,2 | 5,7 | 5,3 | 5,6 | 4,4 | 4,1 | 4,4 | 4,4 | 4,6 | 4,9 | 5,1 |

Diese 5 Versuche zeigen, daß auch **Harnsäure** die $CO_2$-Entwicklung fördern kann; die **Urate** verhalten sich mitunter noch aktiver, was seine Ursache in der leichteren Löslichkeit derselben haben mag. Einige Male hatten wir auch Versager zu verzeichnen.

## B. Ansätze mit Purin-glukosiden.

### 1. Versuche mit Guanosin.

a) Mit Saft aus Patzenhofer Hefe.

| Temperatur 28° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |
| Aktivator-Ansatz . | 3,2 | 9,3 | 16,2 | 17,7 | 19,3 | 21,2 | 25,3 | 28,0 | 29,3 | 30,9 | 36,9 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,8 | 8,1 | 12,3 | 11,5 | 11,7 | 11,2 | 9,9 | 7,9 | 5,4 | 3,5 | 1,0 |

b) Mit demselben Saft wie bei a), bei niedrigerer Temperatur.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,3 | 1,3 | 4,6 | 9,2 | 11,7 | 13,6 | 16,4 | 28,3 |
| Aktivator-Ansatz . | 0,5 | 5,8 | 10,9 | 14,0 | 15,5 | 16,8 | 19,0 | 28,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,2 | 4,5 | 6,3 | 4,8 | 3,8 | 3,2 | 2,6 | −0,1 |

c) Mit Saft aus Schultheißhefe.

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 155′ | 190′ | 220′ | 265′ | 310′ | 380′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 2,5 | 4,5 | 7,5 | 10,0 | 12,6 | 15,0 | 17,4 | 19,6 | 21,5 | 22,4 | 23,3 | 29,0 |
| Aktivator-Ansatz . | 2,4 | 6,6 | 10,0 | 13,6 | 16,8 | 18,3 | 21,7 | 23,9 | 25,7 | 26,6 | 27,8 | 34,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −0,1 | +2,1 | 2,5 | 3,6 | 4,2 | 3,3 | 4,3 | 4,3 | 4,2 | 4,2 | 4,5 | 5,8 |

Hier war die erteilte Beschleunigung auch am Schluß der Gärung noch deutlich zu erkennen.

d) Mit Saft aus Hefe Senst.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 320′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 24,7 | 25,6 | 35,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 4,3 | 7,8 | 12,5 | 16,6 | 21,2 | 23,9 | 24,9 | 26,1 | 26,9 | 27,4 | 28,1 | 29,3 | 38,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 3,1 | 5,2 | 7,6 | 8,8 | 9,1 | 7,8 | 7,0 | 3,9 | 3,7 | 3,4 | 3,4 | 3,7 | 3,3 |

## 2. Versuche mit Adenosin.

a) Mit Saft aus Patzenhofer Hefe.

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 85′ | 95′ | 105′ | 115′ | 125′ | 135′ | 155′ | 190′ | 220′ | 265′ | 310′ | 380′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,0 | 2,5 | 4,5 | 7,5 | 10,0 | 12,6 | 15,0 | 17,4 | 19,6 | 21,5 | 22,4 | 23,3 | 29,0 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,4 | 4,1 | 8,0 | 11,8 | 14,6 | 17,2 | 19,9 | 22,5 | 24,5 | 25,9 | 26,8 | 27,6 | 33,7 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,4 | 1,6 | 3,5 | 4,3 | 4,6 | 4,6 | 4,9 | 5,1 | 4,9 | 4,4 | 4,4 | 4,3 | 4,7 |

b) Mit demselben Saft wie bei a), jedoch bei etwas höherer Temperatur.

| Temperatur 25° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 60′ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 140′ | 150′ | 170′ | 200′ | 230′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,6 | 3,9 | 8,0 | 11,1 | 13,9 | 16,7 | 18,8 | 21,4 | 22,3 | 23,7 | 24,7 | 25,7 | 30,7 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,9 | 6,8 | 13,6 | 17,3 | 19,3 | 20,5 | 21,1 | 22,3 | 23,2 | 24,7 | 26,1 | 27,2 | 32,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,3 | 2,9 | 5,6 | 6,2 | 5,4 | 3,8 | 2,3 | 0,9 | 0,9 | 1,0 | 1,4 | 1,5 | 1,8 |

c) Mit Saft aus Hefe Senst.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 260′ | 320′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 24,7 | 25,6 | 35,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 1,9 | 4,4 | 9,0 | 13,4 | 18,4 | 21,4 | 22,9 | 25,9 | 26,6 | 27,3 | 28,0 | 28,8 | 37,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,7 | 1,8 | 4,1 | 5,6 | 6,3 | 5,3 | 5,0 | 3,7 | 3,4 | 3,3 | 3,3 | 3,2 | 2,3 |

Guanosin scheint demnach wirksamer zu sein als Adenosin. Die Nucleoside waren nach den Vorschriften von Levene und Jacobs aus Hefenucleinsäure gewonnen; vom Guanosin stand uns auch ein Originalpräparat zur Verfügung, das uns vor Jahren Herr Prof. Levene (New York) dankenswerterweise überlassen hatte.

## C. Ansätze mit Nucleinsäuren.

1. Versuch mit Hefenucleinsäure (Boehringer) und Saft aus Hefe Senst.

| Temperatur 17° | Zeiten nach | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 50′ | 55′ | 65′ | 75′ | 90′ | 105′ | 140′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 6,2 | 7,6 | 9,7 | 12,8 | 15,3 | 16,8 | 19,5 | 21,2 | 22,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 6,8 | 8,5 | 10,7 | 13,6 | 16,0 | 17,0 | 18,2 | 19,2 | 20,1 | 32,1 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,6 | 0,9 | 1,0 | 0,8 | 0,7 | 0,2 | −1,3 | −2,0 | −2,1 | +5,6 |

**2. Versuch mit Thymus-nucleinsäure und Saft aus Hefe Senst.**

| Temperatur 17° | Zeiten nach | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 65′ | 75′ | 90′ | 105′ | 140′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 9,7 | 12,8 | 15,3 | 16,8 | 19,5 | 21,2 | 22,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 7,6 | 13,4 | 16,5 | 18,6 | 21,5 | 24,3 | 25,6 | 32,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −2,1 | +0,6 | 1,2 | 1,8 | 2,0 | 3,1 | 3,4 | 5,7 |

**3. Versuch mit Nucleinsäure aus Fischsperma und Saft aus Hefe Senst.**

| Temperatur 17° | Zeiten nach | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 90′ | 105′ | 140′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 15,3 | 16,8 | 19.5 | 21,2 | 22,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 14,9 | 16,6 | 19,7 | 25,6 | 27,4 | 33,5 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −0,4 | −0,2 | +0,2 | 4,4 | 5,2 | 7,0 |

**4. Versuch mit Milznucleinsäure und gleichem Saft.**

| Temperatur 17° | Zeiten nach | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 90′ | 105′ | 140′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 15,3 | 16,8 | 19,5 | 21,2 | 22,2 | 26,5 |
| Aktivator-Ansatz . | 11,5 | 14,7 | 17,7 | 21,4 | 23,3 | 31,4 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | −3,8 | −2,1 | −1,8 | +0,2 | 1,1 | 4,9 |

**5. Versuch mit inosinsaurem Barium[1]) und Saft aus Sensthefe.**

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 35′ | 45′ | 60′ | 80′ | 170′ | 200′ | 230′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,2 | 2,6 | 4,9 | 7,8 | 12,1 | 16,1 | 17,9 | 22,2 | 23,2 | 24,0 | 35,2 |
| Aktivator-Ansatz . | 2,2 | 5,6 | 8,9 | 12,0 | 17,0 | 19,9 | 20,8 | 23,5 | 24,3 | 25,1 | 36,3 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 1,0 | 3,0 | 4,0 | 4,2 | 4,9 | 3,8 | 2,9 | 1,3 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |

Die Nucleinsäuren zeigten öfter anfänglich eine schwache Verzögerung; gegen Ende der Gärung aber überholten die Ansätze damit die Kontrollen. (Allmähliche Zerlegung der Nucleinsäuren durch entsprechende Hefenfermente und Entstehung wirksamer Spaltprodukte?)

[1]) Dargestellt nach C. Neuberg und B. Brahn, Ber. 41, 3380. 1908. Dort ist übrigens auch kurz erwähnt, daß man aus den alkoholischen Auszügen von Fleischextrakt leicht Kreatinin gewinnen kann; dieses einfache Vorgehen hat jüngst H. Steudel (H. 112, 53. 1921) zu einer sehr bequemen Darstellung des Kreatinins ausgebildet. Vor 12 Jahren haben wir mehr als 200 g so erhaltenen Kreatinins an Emil Fischer abgegeben.

## D. Ansätze mit Abbauprodukten der Purine.

### 1. Versuche mit Allantoin[1]).

a) Mit Saft aus Patzenhofer'Hefe.

| Temperatur 26° | Zeiten nach | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 75′ | 80′ | 85′ | 90′ | 95′ | 105′ | 135′ | 180′ | 235′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,4 | 1,2 | 3,9 | 6,2 | 7,6 | 10,0 | 15,4 | 20,1 | 23,9 | 27,4 | 35,9 |
| Aktivator-Ansatz . | 3,2 | 7,3 | 14,1 | 19,4 | 21,2 | 23,1 | 27,1 | 29,6 | 31,3 | 33,0 | 39,2 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 2,8 | 6,1 | 10,2 | 13,2 | 13,6 | 13,1 | 11,7 | 9,5 | 7,4 | 5,6 | 3,3 |

b) Mit demselben Saft wie bei a), aber bei niedrigerer Temperatur.

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,3 | 1,3 | 4,6 | 9,2 | 11,7 | 13,6 | 16,4 | 28,3 |
| Aktivator-Ansatz. . | 0,3 | 2,0 | 8,0 | 14,5 | 17,1 | 18,7 | 21,0 | 31,6 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,0 | 0,7 | 3,4 | 5,3 | 5,4 | 5,1 | 4,6 | 3,3 |

c) Mit Saft aus der gleichen Hefe.

| Temperatur 25° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 60′ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 140′ | 150′ | 170′ | 200′ | 230′ | 290′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,6 | 3,9 | 8,0 | 11,1 | 13,9 | 16,7 | 18,8 | 21,4 | 22,3 | 23,7 | 24,7 | 25,7 | 26,8 | 30,7 |
| Aktivator-Ansatz. . | 1,9 | 7,3 | 13,8 | 17,6 | 20,0 | 21,6 | 23,1 | 25,3 | 26,2 | 27,4 | 28,5 | 29,7 | 30,7 | 37,6 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 0,3 | 3,4 | 5,8 | 6,5 | 6,1 | 4,9 | 4,3 | 3,9 | 3,9 | 3,7 | 3,8 | 4,0 | 3,9 | 6,9 |

d) Mit Saft aus Sensthefe.

| Temperatur 21° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 20′ | 25′ | 30′ | 40′ | 55′ | 80′ | 110′ | 140′ | 170′ | 200′ | 260′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 1,8 | 4,3 | 7,3 | 13,5 | 17,9 | 21,6 | 24,5 | 26,6 | 27,7 | 28,4 | 29,2 | 39,6 |
| Aktivator-Ansatz. . | 5,1 | 10,0 | 13,6 | 19,1 | 23,4 | 26,5 | 29,8 | 32,1 | 33,4 | 34,2 | 35,3 | 46,8 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 3,3 | 5,7 | 6,3 | 5,6 | 5,5 | 4,9 | 5,3 | 5,5 | 5,7 | 5,8 | 6,1 | 7,2 |

[1]) Teils durch Oxydation von Harnsäure nach Sundwick, teils aus Harn nach W. Wiechowski bereitet.

## 2. Versuche mit Alloxantin.

### a) Mit Saft aus Unterhefe Schultheiß.

| Temperatur 24° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 40′ | 50′ | 60′ | 75′ | 85′ | 100′ | 115′ | 125′ | 135′ | 165′ | 195′ | 225′ | 255′ | 285′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 9,7 | 13,4 | 15,6 | 19,9 | 22,9 | 24,5 | 25,7 | 26,4 | 33,5 |
| Aktivator-Ansatz. . | 4,3 | 9,7 | 12,2 | 15,8 | 16,8 | 21,8 | 23,9 | 24,7 | 25,1 | 26,9 | 27,5 | 28,1 | 28,5 | 29,5 | 35,0 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 4,3 | 9,7 | 12,2 | 15,8 | 16,8 | 20,8 | 14,2 | 11,3 | 9,5 | 7,0 | 4,6 | 3,6 | 2,8 | 3,1 | 1,5 |

### b) Mit Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 28° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 70′ | 80′ | 90′ | 100′ | 110′ | 120′ | 130′ | 140′ | 150′ | 160′ | 170′ | 190′ | 220′ | 250′ | 280′ | 310′ | 370′ | 430′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,2 | 0,6 | 1,5 | 2,8 | 4,2 | 6,7 | 7,8 | 8,8 | 9,9 | 10,7 | 12,2 | 17,2 | 19,1 | 20,2 | 21,0 | 22,1 | 23,0 | 27,3 |
| Aktivator-Ansatz . | 4,7 | 7,4 | 10,7 | 11,7 | 13,2 | 14,8 | 17,5 | 18,8 | 20,6 | 21,2 | 21,9 | 22,8 | 25,0 | 26,2 | 27,3 | 27,8 | 28,3 | 29,2 | 32,3 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 4,7 | 7,2 | 10,1 | 10,2 | 10,4 | 10,6 | 10,8 | 11,0 | 11,8 | 11,3 | 11,2 | 10,6 | 7,8 | 7,1 | 7,1 | 6,8 | 6,2 | 6,2 | 5,0 |

## 3. Versuch mit mesoxalsaurem Barium und Saft aus Unterhefe Patzenhofer.

| Temperatur 22° | Zeiten nach | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entwickelte ccm $CO_2$ | 55′ | 65′ | 75′ | 85′ | 95′ | 105′ | 120′ | 155′ | 185′ | 225′ | 255′ | 300′ | 1200′ |
| Kontrolle . . . . . | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,2 | 0,7 | 1,7 | 4,7 | 9,0 | 11,0 | 13,1 | 14,2 | 16,5 | 29,1 |
| Aktivator-Ansatz . | 3,0 | 5,5 | 8,5 | 11,6 | 13,7 | 16,1 | 19,5 | 22,4 | 24,0 | 25,3 | 26,0 | 26,7 | 34,4 |
| Beschleunig. gegenüber der Kontrolle | 3,0 | 5,5 | 8,5 | 11,4 | 13,0 | 14,4 | 14,8 | 13,4 | 13,0 | 12,2 | 11,8 | 10,2 | 5,3 |

Auch diese 3 Körper waren recht deutliche Aktivatoren; sie förderten im Gegensatze zu den Nucleinsäuren gleich zu Anfang, und das Plus an $CO_2$ gegenüber der Kontrolle blieb bis zum Ende der Gärtätigkeit bestehen. Am stärksten war Alloxantin tätig, dann folgten Mesoxalsäure und Allantoin[1]).

[1]) In den vorstehend beschriebenen Fällen war der Aktivatoreffekt auch zum Schluß, wo unter den gewählten Bedingungen die Vergärung mit Saft praktisch beendet war, vielfach zu beobachten. Daher kann es zweifelhaft sein, ob man einen scharfen Unterschied zwischen „Initiatoren“ und „Acceleratoren“ machen soll; dies empfehlen jüngst S. Fränkel und E. Schwarz (diese Zeitschr. **112**, 211) bei ihren eingehenden Vitaminstudien. Schließlich muß gerade bei den von ihnen verwendeten lebenden Hefen ein Ausgleich eintreten; mehr als vollständig kann der vorhandene Zucker nicht vergären, und eine Mehrabgabe von $CO_2$ erscheint zunächst nur erklärlich, wenn man andere Umsetzungsverhältnisse oder andere Abstammung des Kohlendioxyds annehmen will.

# Untersuchungen über die Bindung des Chinins an die roten Blutkörperchen und über die Verteilung des Chinins im Blute.

Von

**P. Rona** und **E. Bloch.**

(Aus dem Biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

*(Eingegangen am 6. Juni 1921.)*

Mit 7 Abbildungen im Text.

I. Die Schwierigkeiten, auf die man beim Studium der Chininverteilung im Blute stieß, ergaben sich einmal daraus, daß die zu gewichtsanalytischen Bestimmungen nötigen Mengen zu groß sind, um praktisch in Frage zu kommen, dann daraus, daß die bisher angewandten biologischen Methoden im allgemeinen nur qualitative Resultate ergaben. Während von den Identitätsreaktionen des Chinins die Fluorescenz von Hartmann und Zila[1]), die Fällung mit Kaliumquecksilberjodid von Acton und King[2]) zu quantitativen Methoden ausgearbeitet worden sind, stand eine quantitativ arbeitende biologische Methode, wie sie Schnabel[3]) für das Optochin angegeben hat, für Chinin noch aus. In vorangehenden Arbeiten[4]) fanden wir nun, daß Chinin, wie Atoxyl, Serumlipase nach einer bestimmten Gesetzmäßigkeit vergiftet, daß nämlich bei geometrischer Zunahme der Giftkonzentrationen die Geschwindigkeitskonstanten der durch Lipase bewirkten Tributyrinspaltung in arithmetischer Progression abnehmen. Bezeichnen wir zwei Giftkonzentrationen

---

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **83**, 221. 1918.

[2]) Biochem. Journ. **15**, 53. 1921.

[3]) Diese Zeitschr. **108**, 258. 1920; **112**, 112. 1920.

[4]) Rona und Bach, diese Zeitschr. **111**, 166. 1920; Rona und Reinicke, ebenda **118**, 213. 1921.

mit $A$ und $B$, die zugehörigen Geschwindigkeitskonstanten der Tributyrinspaltung mit $k_a$ und $k_b$, so besteht die Beziehung $\frac{k_a - k_b}{\log B - \log A} = \varkappa$. Bei Kenntnis von $\varkappa$ ist es nun möglich, aus einer gefundenen Geschwindigkeitskonstante die zugehörige Giftkonzentration zu berechnen. Da wir ferner gefunden haben, daß Chinin noch in einer Konzentration von $^1/_{80}$ mg in 60 ccm Gesamtvolumen Menschenserumlipase deutlich hemmt, schien hier ein Weg gegeben, die Chininverteilung im Blut zu prüfen.

Wir haben zunächst die Bindung des Chinins an die roten Blutkörperchen studiert. Während Giemsa und Schaumann[1]) diesbezüglich keine eindeutigen Resultate erhalten hatten, haben Nocht[2]) und Morgenroth[3]) auf biologischem Wege, Schilling und Boecker[4]) qualitativ auf Grund des stärkeren oder schwächeren Ausfalls der Kaliumquecksilberjodidprobe eine „Speicherung" des Chinins in den roten Blutkörperchen nachgewiesen; quantitativ wurde dieser Befund von Halberkann[5]) für größere Chininmengen gewichtsanalytisch, dann auch von Acton und King[6]) bestätigt. Für Optochin fanden Morgenroth und Ginsberg[7]) und Schnabel[8]) das Gleiche.

Unsere Versuche gestalteten sich im einzelnen folgendermaßen. Es wurde zunächst mit gewaschenen und in physiologischer NaCl-Lösung suspendierten Blutkörperchen gearbeitet. Blutkörperchensuspension, Chinin und Regulator wurden gut vermischt, in einem Teil wurde mittels Hämatokriten der Prozentgehalt an roten Blutkörperchen bestimmt und nach einer bestimmten Zeit aus dem Gemisch die roten Blutkörperchen abzentrifugiert. Eine einfache Rechnung ergab das Volumen der Flüssigkeit, in dem sich das von den Blutkörperchen nicht gebundene Chinin befinden mußte. Nun wurden zwei Parallelreihen von Versuchen angesetzt. In der einen wirkten bekannte Mengen Chinin in geometrisch absteigenden

[1]) Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. **11**, Beiheft 3, Seite 31. 1907.
[2]) Zit. nach Halberkann, diese Zeitschr. **95**, 24. 1919.
[3]) Dtsch. med. Wochenschr. **44**, 961 u. 988. 1918.
[4]) Dtsch. med. Wochenschr. **45**, 682. 1919.
[5]) Diese Zeitschr. **95**, 24. 1919.
[6]) l. c.
[7]) Berl. klin. Wochenschr. **49**, 2183. 1912; **50**, 313. 1913. Centralbl. f. prakt. Augenheilk. Okt. 1913.
[8]) l. c.

Konzentrationen — wir benutzten Reihen mit dem Faktor 3 — auf Serumlipase, in der anderen die nach Abzentrifugieren der Blutkörperchen aus dem Gemisch gewonnene Flüssigkeit, von der wir uns, um einander kontrollierende Werte zu erhalten, gleichfalls in geometrischer Reihe mit dem Faktor 3 absteigende Verdünnungen herstellten. Wir wählten nun diese Flüssigkeitsmengen so, daß ihr Chiningehalt genau den in der ersten Reihe wirkenden Chininmengen entsprach, falls keine Bindung an die Blutkörperchen stattfand. Unterschiede in den Geschwindigkeitskonstanten mußten es uns gestatten, die an die Blutkörperchen gebundene Menge zu berechnen. Die Methode gibt brauchbare Werte, falls mehr als 30% der Chininmenge gebunden worden sind.

Als Maß der Lipasewirkung diente die Tributyrinspaltung, die wir mit der Tropfmethode verfolgten. In dem Gemisch befanden sich 50 ccm gesättigte Tributyrinlösung, 5 ccm Regulator ($^m/_6$-Phosphatgemisch mit $p_H$ 7,7—8), die Chininlösung und 1 ccm Menschenserum. Die Gemische wurden mit destilliertem Wasser auf 60 ccm aufgefüllt. Das Serum wurde zuletzt, also zu Beginn der Spaltung, zugefügt; Tributyrin schützt die Lipase nicht gegen das Chinin. Da die roten Blutkörperchen beträchtliche Lipasemengen enthalten, wurde in den ersten Versuchen eine Kontrolle angesetzt, in der die durch Abzentrifugieren der roten Blutkörperchen gewonnene physiologische Kochsalzlösung ohne Serumzusatz auf ihre Wirkung auf Tributyrin geprüft wurde, um zu entscheiden, ob Lipase aus den Blutkörperchen ausgewaschen wird. Es trat nirgends eine Spaltung ein. Als Stammlösung des Chinins wurde eine 2 promill. Lösung von Chinin. hydrochlor.[1]) benutzt. Sämtliche Versuche fanden bei Zimmertemperatur statt. Die Konstante $\varkappa$ berechnet sich aus der Formel $\frac{k_a - k_b}{\log 3} = \varkappa$; für $k_a - k_b$ setzten wir den Durchschnittswert der Differenzen je 2 benachbarter Geschwindigkeitskonstanten ein.

Versuch 1: 12 ccm Suspension von gewaschenen Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung; 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95 elektrometr. gemessen); 2 ccm der Chininlösung (= 4 mg Chinin). Diese Mischung stand 70 Min., dann wurde zentrifugiert. Hämatokritwert der Blutkörperchen 24%; daher Volumen der Flüssigkeit im Gemisch (stets mit „Fl" bezeichnet) 11,4 ccm.

Abb. 1 gibt den Versuch graphisch wieder. Auf der Abszisse sind die Giftkonzentrationen logarithmisch aufgetragen, auf der Ordinate die Geschwindigkeitskonstanten der fermentativen Spaltung (mal $10^3$) verzeichnet. Die Konstanten der Reihe A sind mit einem Kreuz, die der Reihe B mit einem Ring bezeichnet. Die Chininkonzentrationen sind in der Reihe A die tatsächlich wirksamen; in der Reihe B sind sie auf den Wert vor der Bindung an die Blutkörperchen bezogen.

[1]) In der Arbeit einfach mit „Chinin" bezeichnet.

Tabelle I (Abb. 1).

| A | | B | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | Geschwindigkeitskonstante $k$ | Von Fl zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm, falls keine Bindung | Chinin gefunden, mg in 60 ccm | Chinin gebunden % |
| — | 0,0097 | 0,95 | 0 | 0 | 0 | — |
| $^{1}/_{81}$ | 0,0076 | ohne Serum 0,95 | 0,0094 | 0,0123 | 0,0043 | 64,7 |
| $^{1}/_{27}$ | 0,0057 | 27 fach verd. 0,95 | 0,0076 | 0,0370 | 0,0123 | 66,8 |
| $^{1}/_{9}$ | 0,0038 | 9 fach verd. 0,95 | 0,0059 | 0,1111 | 0,0329 | 70,3 |
| $^{1}/_{3}$ | 0,0020 | 3 fach verd. 0,95 | 0,0038 | 0,333 | 0,111 | 66,7 |

Im Mittel gebunden: 67,1%

Versuch 2: 12 ccm Suspension von gewaschenen Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung; 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95, elektrometr. gemessen); 2 ccm Chininlösung (= 4 mg Chinin). Diese Mischung stand 60 Min., dann wurde zentrifugiert. Hämatokritwert der Blutkörperchen 17%; Fl: 12,45 ccm.

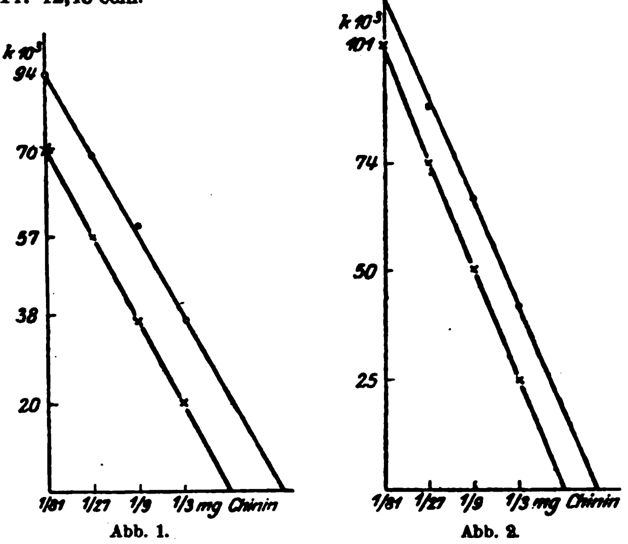



Abb. 1. Abb. 2.

Die von $^{1}/_{81}$ mg Chinin (in 60 ccm Gesamtvolumen) hervorgerufene Hemmung ist bereits sehr gering, daher liegt auch die nach Bindung an die Blutkörperchen in der Lösung befindliche Chininmenge unterhalb des Giftschwellenwertes. Dieser Wert kommt also für die Berechnung nicht in Betracht.

Versuch 3: 12 ccm Suspension von gewaschenen Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung; 1 ccm Regulator ($p_H$ 6.95 elektrometr. gemessen); 2 ccm Chininlösung (= 4 mg). Diese Mischung stand 70 Min., dann wurde zentrifugiert. Hämatokritwert der Blutkörperchen 25%. Fl: 11.25 ccm.

## Tabelle II (Abb. 2).

| A | | B | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | Geschwindigkeitskonstante $k$ | Von Fl zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm, falls keine Bindung | Chinin gefunden, mg in 60 ccm | Chinin gebunden % |
| — | 0,0108 | 1,04 ohne Serum | 0 | 0 | — | — |
| $^1/_{81}$ | 0,0101 | 1,04 27fach verd. | 0,0107 | 0,0123 | — | — |
| $^1/_{27}$ | 0,0074 | 1,04 9fach verd. | 0,0087 | 0,0370 | 0,0207 | 44,1 |
| $^1/_9$ | 0,0050 | 1,04 3fach verd. | 0,0067 | 0,1111 | 0,0518 | 53,3 |
| $^1/_3$ | 0,0025 | 1,04 | 0,0041 | 0,333 | 0,163 | 51,2 |

Im Mittel gebunden: 49,5%

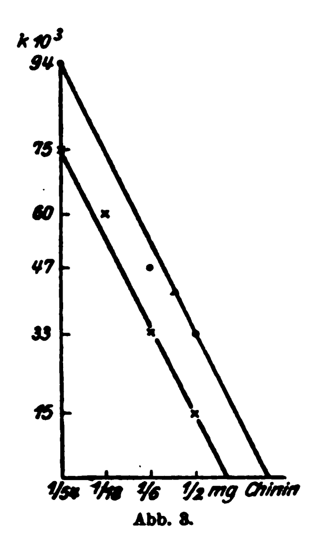


Abb. 3.

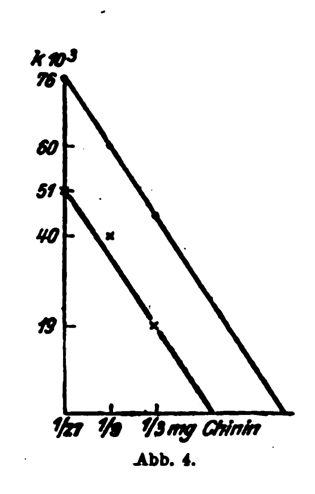


Abb. 4.

## Tabelle III (Abb. 3).

| A | | B | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | Geschwindigkeitskonstante $k$ | Von Fl zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm, falls keine Bindung | Chinin gefunden, mg in 60 ccm | Chinin gebunden % |
| — | 0,0098 | 1,41 ohne Serum | 0 | — | — | — |
| $^1/_{54}$ | 0,0075 | 1,41 27fach verd. | 0,0094 | 0,0185 | 0,0065 | 64,8 |
| $^1/_{18}$ | 0,0060 | 1,41 9fach verd. | 0,0082 | 0,0555 | 0,0166 | 70,1 |
| $^1/_6$ | 0,0033 | 1,41 3fach verd. | 0,0047 | 0,1666 | 0,0769 | 53,7 |
| $^1/_2$ | 0,0015 | 1,41 | 0,0032 | 0,5000 | 0,1960 | 60,7 |

Im Mittel gebunden: 62,3%

Versuch 4: 12 ccm Suspension von gewaschenen Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung; 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95 elektrometr. gemessen); 2 ccm der Chininlösung (= 4 mg). Diese Mischung stand 80 Min., dann wurde abzentrifugiert. Hämatokritwert der Blutkörperchen 48%; daher Volumen der Flüssigkeit im Gemisch (Fl) 7,8 ccm.

Tabelle IV (Abb. 4).

| *A* | | *B* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | Geschwindigkeitskonstante *k* | Von Fl zugesetzt ccm in 60 ccm | *k* | Chinin mg in 60 ccm, falls keine Bindung | Chinin gefunden, mg in 60 ccm | Chinin gebunden % |
| — | 0,0089 | 0,65 | 0 | — | — | — |
| | | ohne Serum | | | | |
| 1/27 | 0,0051 | 0,65 | 0,0076 | 0,0370 | 0,0080 | 78,3 |
| | | 9 fach verd. | | | | |
| 1/9 | 0,0040 | 0,65 | 0,0060 | 0,1111 | 0,0327 | 70,5 |
| | | 8 fach verd. | | | | |
| 1/3 | 0,0019 | 0,65 | 0,0044 | 0,333 | 0,0724 | 78,3 |

Im Mittel gebunden: 75,7%

Die in den einzelnen Versuchen erhaltenen Werte stimmen untereinander ausreichend überein. Die gebundene Chininmenge wächst, wie zu erwarten, mit steigendem Gehalt des Gemisches an roten Blutkörperchen.

Tabelle V.

| Nr | Hämatokritwert der roten Blutkörperchen | Gebundene Chininmenge % |
|---|---|---|
| 2 | 17 | 49,5 |
| 1 | 24 | 67,1 |
| 3 | 25 | 62,3 |
| 4 | 48 | 75,7 |

II. Die nächste Frage war, zu entscheiden, ob wir das an die Blutkörperchen gebundene Chinin wiederfinden können. Zu diesem Zwecke wurde mit dem ätherischen Extrakt der hämolysierten und alkalisch gemachten Blutkörperchen, die mit dem Chinin beladen waren, gearbeitet.

Als Vorversuch mußte geprüft werden, ob der aus normalen Blutkörperchen gewonnene Ätherextrakt keinen hemmenden Einfluß auf die Serumlipase ausübt.

Versuch 5: 12 ccm Rinderblutkörperchensuspension (mit 31 vol.-proz. Blutkörperchen) wurden mit destilliertem Wasser hämolysiert, mit Natronlauge alkalisch gemacht, mit Äther erschöpfend extrahiert, der ätherische Rückstand mit 1 ccm $^n/_{10}$-HCl und destilliertem Wasser aufgenommen,

mit 1 ccm $^{n}/_{10}$-$N_2OH$ neutralisiert, auf 11 ccm aufgefüllt. Dann wurden 2 Spaltungsreihen angesetzt; in I ohne Zusatz, in II mit Zusatz von 4 ccm des neutralisierten Ätherextraktes. Die Konstanten der Tributyrinspaltung waren in I: 0,0120, in II: 0,0104.

Versuch 6: 12 ccm Hammelblutkörperchensuspension in physiologischer Kochsalzlösung (mit 42 vol.-proz. Blutkörperchen) wurden wie in Versuch 5 behandelt, der Ätherrückstand wurde mit 1 ccm 0,1 n-HCl und destilliertem Wasser aufgenommen, mit 1 ccm 0,1 n-NaOH neutralisiert, auf 10 ccm aufgefüllt. Davon wurden zugefügt in II 1 ccm, in III 1 ccm 3fach verdünnt. I ist Kontrolle ohne Zusatz. Die Geschwindigkeitskonstanten betrugen in I 0,0059, in II 0,0056, in III 0,0058.

Versuch 7: Anordnung wie in Versuch 6. Die Geschwindigkeitskonstanten sind in I 0,0074, in II 0,0071, in III 0,0072.

Versuch 6 und 7 ergaben keine Hemmung. Die geringe Hemmung, die sich in Versuch 5 zeigte, kann gegen die starke Hemmung vernachlässigt werden, die sich in den Chininversuchen zeigte.

Versuch 8: Die in Versuch 4 (vgl. S. 240) durch Abzentrifugieren gewonnenen Blutkörperchen wurden in destilliertem Wasser aufgelöst, mit Natronlauge alkalisch gemacht und wiederholt mit Äther ausgezogen. Der Äther wurde abdestilliert, der Rückstand mit destilliertem Wasser und einigen Tropfen verd. HCl aufgenommen und auf 25 ccm aufgefüllt. Von dieser Lösung („Fl“) wurde in Reihe *B* zugesetzt.

Tabelle VI.

| *A* | | *B* | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | *k* | Zugesetzte „Fl“ ccm in 60 ccm | *k* | Berechnete Chininmenge mg in 60 ccm | Chinin mg in den Blutkörperchen |
| — | 0,0093 | — | — | — | — |
| $^{1}/_{81}$ | 0,0078 | 1,0 9fach verd. | 0,0077 | $^{1}/_{81}$ | 2,78 |
| $^{1}/_{27}$ | 0,0055 | 1,0 3fach verd. | 0,0055 | $^{1}/_{27}$ | 2,78 |
| $^{1}/_{9}$ | 0,0031 | 1,0 | 0,0030 | $^{1}/_{9}$ | 2,78 |
| $^{1}/_{3}$ | 0,0015 | — | — | — | — |

Versuch 4 hatte ergeben, daß von 4 mg dem Blute zugefügtem Chinin 75,7% = 3,03 mg an die Blutkörperchen gebunden war. Im Versuch 8 fanden sich 2,78 mg = 91,7% der aus der Suspensionsflüssigkeit verschwundenen Menge wieder.

Zwei weitere Versuchsreihen führten zu demselben Ergebnis.

Versuch 9: 13,5 ccm Suspension von Blutkörperchen vom Menschen, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 0,5 ccm Chininlösung (= 1 mg). Diese Mischung stand 70 Min., dann wurde abzentrifugiert. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 63%; Flüssigkeitsmenge („Fl“) 5,5 ccm. — Die abzentri-

fugierten Blutkörperchen wurden in destilliertem Wasser aufgelöst, mit Natronlauge alkalisch gemacht, mit Äther extrahiert. Der Äther wird abdestilliert, der Ätherrückstand mit 1,0 ccm $^n/_{10}$-HCl und wenig destilliertem Wasser aufgenommen, mit 1,0 ccm $^n/_{10}$-NaOH neutralisiert und mit destilliertem Wasser auf 10 ccm aufgefüllt. — Nun wurden 3 Reihen angesetzt. In Reihe *A* wirkt Chinin in bekannter Konzentration, in Reihe *B* aliquote Mengen der „Fl“ in Reihe *C* des Ätherextraktes.

Tabelle VII.

| *A* | | *B* | | | | *C* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | *k* | Fl. zugesetzt ccm in 60 cm | *k* | In Reihe *B* Chinin mg in 60 ccm | gebunden % | Vom Ätherextrakt zugefügt ccm in 60 ccm | *k* | In Reihe *C* Chinin mg in 60 ccm | Chinin i. d. Blutkörp. mg |
| — | 0,0128 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0.0278 | 0,0086 | 1,39 9fach verd. | 0,0120 | — | — | 3,0 9fach verd. | 0,0088 | 0,0261 | 0,783 |
| 0,0833 | 0,0046 | 1,39 8fach verd. | 0,0106 | 0,0120 | 85,7 | 3,0 8fach verd. | 0,0052 | 0,0686 | 0,686 |
| 0,250 | 0,0018 | 1,39 | 0,0075 | 0,0397 | 84,2 | 3,0 | 0,0019 | 0,242 | 0,807 |

Im Mittel gebunden: 85 % Im Mittel: 0,759 mg

Der Versuch zeigt, daß von dem 1 mg dem Blute zugefügten Chinin 85%, d. h. 0,85 mg an die Blutkörperchen gebunden war. Davon wurden wiedergefunden 0,759 mg, d. h. 89,3% der verschwundenen Menge.

Versuch 10: 12 ccm Suspension von Blutkörperchen von Menschen, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95); 2 ccm Chininlösung (= 4 mg). Diese Mischung steht 80 Min. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 57%. Flüssigkeitsmenge 6,45 ccm. Sonst wurde wie im Versuch 9 verfahren.

Tabelle VIII.

| *A* | | *B* | | | | *C* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | *k* | Fl. zugesetzt ccm in 60 ccm | *k* | In Reihe *B* Chinin mg in 60 ccm | gebunden % | Vom Ätherextrakt zugefügt ccm in 60 ccm | *k* | In Reihe *C* Chinin mg in 60 ccm | Chinin i. d. Blutkörp. mg |
| — | 0,0087 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 0,0278 | 0,0058 | 0,4 9fach verd. | 0,0085 | — | — | 1,0 9fach verd. | 0,0062 | 0,0213 | 1,917 |
| 0,0833 | 0,0040 | 0,4 3fach verd. | 0,0056 | 0,289 | 65,3 | 1,0 8fach verd. | 0,0045 | 0,0598 | 1,794 |
| 0,250 | 0,0025 | 0,4 | 0,0043 | 0,076 | 69,6 | 1,0 | 0,0025 | 0,250 | 2,5 |

Im Mittel gebunden: 67,5% Im Mittel: 2,07 mg

Der Versuch zeigt, daß von den 4 mg dem Blute zugeführten Chinin 67,5%, d. h. 2,6 mg an die Blutkörperchen gebunden war. Davon wurden wiedergefunden 2,07 mg, d. h. 79,6% der verschwundenen Chininmenge.

Wir stellen die Resultate noch einmal zusammen:

Tabelle IX.

| Versuch Nr. | Chinin gebunden mg | In den Blutkörperchen gefunden mg | Wiedergefunden % |
|---|---|---|---|
| 4 und 8 | 3,03 | 2,78 | 91,7 |
| 9 | 0,85 | 0,76 | 89,3 |
| 10 | 2,60 | 2,07 | 79,6 |

Es gelingt also 80—90% der gebundenen Chininmenge in den Blutkörperchen nachzuweisen.

III. Morgenroth[1]) und Halberkann[2]) fanden, daß chininbeladene rote Blutkörperchen beim Schütteln mit chininfreier Flüssigkeit Chinin abgeben. Halberkann stellte ferner fest, daß den Blutkörperchen dabei nicht alles Chinin entzogen wird, und schloß daraus, daß zwischen den Blutkörperchen und der Außenflüssigkeit sich ein Gleichgewicht einstellt. — Wir prüften gleichfalls die Reversibilität der Chininbindung.

Versuch 11: 12 ccm Blutkörperchensuspension vom Hammel, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95); 2 ccm Chininlösung (= 4 mg). Die Mischung steht 110 Min. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 34%; Flüssigkeitsmenge („Fl") 9,9 ccm.

In 11a wird die Größe der Bindung festgestellt.

Tabelle X.

| A | | B | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | k | Von der „Fl" zugefügt ccm in 60 ccm | k | Chinin mg in 60 ccm in Reihe B | Chinin gebunden % |
| — | 0,0081 | — | — | — | |
| 1/24 | 0,0054 | 0,31 3fach verd. | 0,0065 | 0,0165 | 60,5 |
| 1/8 | 0,0039 | 0,31 | 0,0054 | 0,0417 | 66,7 |

Im Mittel gebunden: 63,6 %

Die roten Blutkörperchen werden nun 2 mal mit großen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, dann hämo-

[1]) Deutsch. med. Wochenschr. 44, 961 u. 988. 1918.

[2]) Diese Zeitschr. 95, 24. 1919.

lysiert, ausgeäthert, der ätherische Rückstand wie in den Versuchen 9 und 10 behandelt.

In 11 b wird nun die in den Blutkörperchen noch vorhandene Chininmenge festgestellt.

Tabelle XI.

| A | | B | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Chinin mg in 60 ccm | $k$ | Vom Ätherextrakt zugefügt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm in Reihe B | Chinin mg in den Blutkörperchen |
| — | 0,0059 | — | — | | |
| $^1/_{24}$ | 0,0031 | 1,0 3fach verd. | 0,0047 | 0,0059 | 0,177 |
| $^1/_8$ | 0,0022 | 1,0 | 0,0039 | 0,0157 | 0,157 |
| | | | | | Im Mittel: 0,167 mg |

Es wurden also von den in den roten Blutkörperchen vorhandenen 2,54 mg Chinin nur 0,167 mg, d. h. 6,6% wiedergefunden.

In den beiden folgenden Versuchen prüften wir die Frage, ob tatsächlich ein Gleichgewichtszustand sich einstellt.

Versuch 12: 12 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 2 ccm Chininlösung (= 4 mg). Die Mischung stand 100 Min. Hämatokritwert der Blutkörperchen 31%; Flüssigkeitsmenge (Fl) 10,35 ccm. — Die abzentrifugierten roten Blutkörperchen wurden mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung vermischt, abzentrifugiert und die Chininmenge sowohl in den roten Blutkörperchen wie in der abzentrifugierten Flüssigkeit ($Fl_2$) bestimmt.

In der Versuchsreihe zur Feststellung der Beziehung zwischen Chininkonzentration und Fermenthemmung wurden für die Geschwindigkeitskonstante $k$ folgende Werte gefunden: Ohne Chininzusatz 0,0105, $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0038, $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0059.

Tabelle XII.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Geb. in den rot. Blutkörperchen % | In $Fl_2$ gefunden mg | In den Blutkörperchen gef. mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,52 von Fl . . . | 0,0062 | 0,0725 | 63,7 | | |
| 0,52 „ „ . . . (8fach verd.) | 0,0088 | 0,0196 | 70,6 | | |
| 1,0 von $Fl_2$ . . . | 0,0058 | 0,0859 | | 0,859 | |
| 1,0 „ „ . . . (8fach verd.) | 0,0085 | 0,0222 | | 0,666 | |
| 1,0 Ätherextr. . | 0,0041 | 0,176 | | | 1,76 |
| 1,0 „ (3fach verd.) | 0,0072 | 0,0385 | | | 1,16 |
| | | | Im Mittel: 67,1% = 2,68 mg | Im Mitt.: 0,76 mg | Im Mitt.: 1,46 mg |
| | | | | zusammen 2,22 mg = 82,8% der von den Blutkörperchen gebundenen Chininmenge | |

In der zweiten Blutkörperchensuspension enthielten die Blutkörperchen von 2,22 mg Chinin 1,46 mg d. h. 65,8%. Das Volumen der Blutkörperchen betrug 31,7% des Volumens dieser Suspension. Blutkörperchengehalt und Chininbindung entsprachen einander also in dem ursprünglichen Gemisch (1) und in der zweiten Suspension (2).

Tabelle XIII.

| | Blutkörperchen Vol.-Proz. | An die Blutkörperchen gebundene Chininmenge % |
|---|---|---|
| Suspension 1 . . | 31,0 | 67,1 |
| „ 2 . . | 31,7 | 65,8 |

Versuch 13: 12 ccm Menschenblutsuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 2 ccm Chininlösung (= 4 mg). Die Mischung steht 70 Min. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 42%, Flüssigkeitsmenge (Fl) 8,70 ccm. — Die abzentrifugierten roten Blutkörperchen werden mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt (Hämatokritwert in dieser Suspension 2, für die roten Blutkörperchen 35%), abzentrifugiert und wie in den vorangehenden Versuchen behandelt.

In der Versuchsreihe zur Feststellung der Beziehung zwischen Chininkonzentration und Fermenthemmung wurden für die Geschwindigkeitskonstanten $k$ folgende Werte gefunden: Ohne Chininzusatz 0,0157, mit $^1/_8$ mg Chinin in 60 ccm 0,0056, mit $^1/_{24}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0091.

Tabelle XIV.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Geb. an die rot. Blutkörperchen % | In $Fl_2$ gefunden mg | In den Blutkörperchen gef. mg |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,27 von Fl . . . | 0,0106 | 0,0243 | 80,6 | — | — |
| 0,27 „ „ . . . (8 fach verd.) | 0,0138 | 0,0089 | 78,6 | — | — |
| 1,0 von $Fl_2$ . . . | 0,0080 | 0,0569 | — | 0,569 | — |
| 1,0 „ „ . . . (8 fach verd.) | 0,0117 | 0,0178 | — | 0,534 | — |
| 1,0 Ätherextr. | 0,0045 | 0,179 | — | — | 1,79 |
| 1,0 „ (8 fach verd.) | 0,0075 | 0,0705 | — | — | 2,115 |
| | | | Im Mittel: 79,6% = 8,18 mg | Im Mitt.: 0,55 mg | Im Mitt.: 1,95 mg |
| | | | | zusammen 2,5 mg = 78,6% der von den Blutkörperchen gebundenen Chininmenge | |

Tabelle XV.

| | Blutkörperchen Vol.-Proz. | An die Blutkörperchen gebundene Chininmenge % |
|---|---|---|
| Suspension 1 . . | 42 | 79,6 |
| „ 2 . . | 35 | 78,0 |

Die Tabelle zeigt wieder die Übereinstimmung des ursprünglichen Gemisches und der 2. Suspension in bezug auf Gehalt an roten Blutkörperchen und prozentualer Chininbindung.

Versuch 12 und 13 zeigen, daß zwischen Blutkörperchen und Außenflüssigkeit ein reversibles Gleichgewicht im Chiningehalt sich einstellt.

IV. Aus den bisherigen Versuchen folgt bereits, daß bei verschiedenen Chininkonzentrationen in der Außenflüssigkeit die prozentuale Chininbindung an die Blutkörperchen dieselbe ist, eine bereits von Halberkann gefundene Tatsache. Wir haben in den folgenden Versuchen die Bindung bei verschiedenen Chininkonzentrationen noch einmal untersucht.

Versuch 14: A. 11 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 3 ccm Chininlösung (= 6 mg). — B. 11 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 3 ccm Chininlösung 2fach verdünnt (= 3 mg). — C. 11 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 3 ccm Chininlösung 4fach verdünnt (= 1,5 mg). — D. 11 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 3 ccm Chininlösung 8fach verdünnt (0,75 mg). Die Mischungen stehen 100 Min. Die Giftmengen fallen in geometrischer Reihe mit dem Faktor 2 ab. Hämatokritwert für die Blutkörperchen: 36%. Die Außenflüssigkeit („Fl") beträgt 9,6 ccm.

In der Versuchsreihe zur Feststellung der Beziehung zwischen Chininkonzentration und Fermenthemmung wurden für die Geschwindigkeitskonstanten folgende Werte gefunden: Ohne Chininzusatz 0,0185, mit $^1/_8$ mg in 60 ccm Chinin 0,0064, mit $^1/_{24}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0105.

Tabelle XVI.

| Zugesetzt ccm zu 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|
| 0,2 Fl A . . . . . . | 0,0114 | 0,0176 | 86,0 | 83,4 |
| 0,2 Fl A 3fach verd. . | 0,0147 | 0,0080₂ | 80,8 | |
| 0,4 Fl B . . . . . . | 0,0122 | 0,0128 | 89,7 | 84,5 |
| 0,4 Fl B 3fach verd. . | 0,0145 | 0,00868 | 79,2 | |
| 0,8 Fl C . . . . . . | 0,0129 | 0,0096 | 92,2 | 88,3 |
| 0,8 Fl C 3fach verd. . | 0,0152 | 0,0066 | 84,5 | |
| 1,6 Fl D . . . . . . | 0,0124 | 0,0119 | 90,5 | 85,6 |
| 1,6 Fl D 3fach verd. . | 0,0147 | 0,0080 | 80,8 | |

Versuch 15: Die Gemische A—D haben dieselbe Zusammensetzung wie in Versuch 14. — Die Mischungen stehen 65 Minuten. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 31%. Außenflüssigkeit 10,35 ccm.

In der Versuchsreihe zur Feststellung der Beziehung zwischen Chininkonzentration und Fermenthemmung wurden für die Geschwindigkeits-

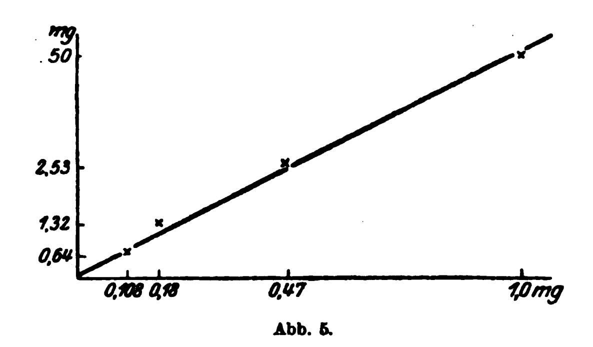



Abb. 5.

konstanten $k$ folgende Werte gefunden: Ohne Chininzusatz 0,0077, mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0018, mit $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0037.

Tabelle XVII.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % |
|---|---|---|---|
| 0,345 Fl A . . . . . . | 0,0034 | 0,056 | 72,0 |
| 0,69 Fl B . . . . . . | 0,0040 | 0,0347 | 82,6 |
| 1,3 Fl C . . . . . . . | 0,0038 | 0,0407 | 79,7 |
| 2,76 Fl D . . . . . . | 0,0033 | 0,0606 | 69,7 |

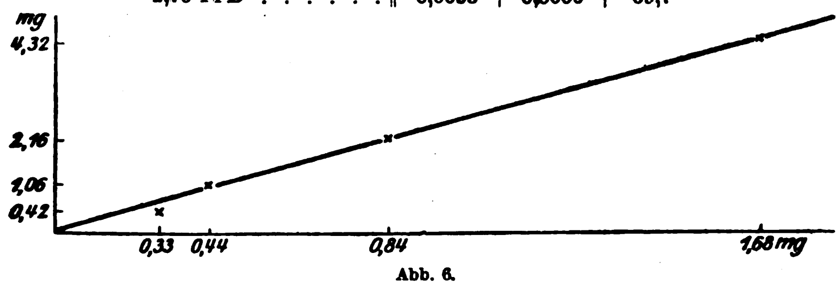



Abb. 6.

**Versuch 16:** Die Gemische A—D haben dieselbe Zusammensetzung wie im Versuch 14 und 15. Die Mischungen stehen 50 Min. Hämatokritwert für die roten Blutkörperchen 38%. Außenflüssigkeit 9,30 ccm.

Tabelle XVIII.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|
| 0,31 Fl A . . . . . . | 0,005 | 0,0631 | 68,4 | 66,6 |
| 0,31 Fl A 3 fach verd. . | 0,0069 | 0,0235 | 64,8 | |
| 0,62 Fl B . . . . . . | 0,0045 | 0,0830 | 58,5 | 58,5 |
| 0,62 Fl B 3 fach verd. . | 0,0066 | 0,0277 | 58,5 | |
| 1,24 Fl C . . . . . . | 0,0046 | 0,0786 | 60,7 | 54,5 |
| 1,24 Fl C 3 fach verd. . | 0,0062 | 0,0345 | 48,3 | |
| 2,48 Fl D . . . . . . | 0,0046 | 0,0786 | 60,7 | 62,8 |
| 2,48 Fl D 3 fach verd. . | 0,0069 | 0,0235 | 64,8 | |

In der Versuchsreihe zur Feststellung der Beziehungen zwischen Chininkonzentration und Fermenthemmung wurden für die Geschwindigkeitskonstanten $k$ folgende Werte gefunden: Ohne Chinin 0,0093, mit $^1/_8$ mg Chinin in 60 ccm 0,0029, mit $^1/_{16}$ mg Chinin 0,005.

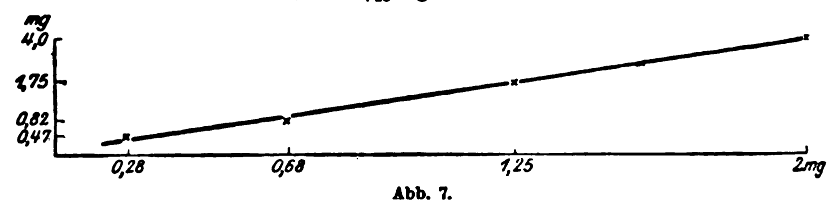



Abb. 7.

Die Versuche 14—16 zeigen, daß die roten Blutkörperchen Chinin aus verschiedenen Konzentrationen in gleichen prozentualen Mengen binden. Die Figuren V bis VII geben die Versuchsresultate graphisch wieder. Auf der Abszisse sind die Chininmengen in der Flüssigkeit, auf der Ordinate die an die Blutkörperchen gebundenen Mengen aufgetragen, die aus den in den Tabellen XVI—XVIII angegebenen Zahlen durch Umrechnung auf die Gesamtvolumina der Flüssigkeit und der Blutkörperchen erhalten sind.

V. Um eine bessere Einsicht in das Wesen der Chininbindung zu gewinnen, mußte ferner der Einfluß der Zeit auf die Chininbindung untersucht werden. Zu diesem Zwecke wurden zu bestimmten Zeiten von demselben Gemisch Blutkörperchen Chininlösung Proben entnommen, die Blutkörperchen abzentrifugiert, von der abgehobenen Flüssigkeit gleiche Mengen dem Tributyringemisch zugefügt.

Versuch 17: 32 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 2 ccm Regulation ($p_H$ 6,95), 6 ccm Chininlösung (= 12 mg). — Hämatokritwert für die Blutkörperchen 37%. Außenflüssigkeit 25,2 ccm.

Tabelle XIX.

| Zentrifugiert nach | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|---|
| 5′ | 0,42 Fl | 0,0063 | 0,0481 | 75,9 | 76,8 |
| | 0,42 Fl 3fach verd. | 0,0092 | 0,0148 | 77,8 | |
| 30′ | 0,42 Fl | 0,0061 | 0,0522 | 73,9 | 73,9 |
| | 0,42 Fl 3fach verd. | 0,0088 | 0,0174 | 73,9 | |
| 1h | 0,42 Fl | 0,0065 | 0,0444 | 77,8 | 77,8 |
| | 0,42 Fl 3fach verd. | 0,0092 | 0,0148 | 77,8 | |
| 2h 5′ | 0,42 Fl | 0,0065 | 0,0444 | 77,8 | 77,8 |
| | 0,42 Fl 3fach verd. | 0,0092 | 0,0148 | 77,8 | |

In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurde für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0117, mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0028, mit $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0055.

Versuch 18: Zusammensetzung wie in 17. Hämatokritwert für rote Blutkörperchen 34%. Außenflüssigkeit 26,4 ccm. In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurde für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0063, mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0022, mit $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0033.

Tabelle XX.

| Zentrifugiert nach | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|---|
| 1h | 0,44 Fl | 0,0033 | 0,0667 | 66,7 | 74,2 |
| | 0,44 Fl 3fach verd. | 0,0050 | 0,0122 | 81,7 | |
| 2h | 0,44 Fl | 0,0036 | 0,0494 | 75,3 | 71,0 |
| | 0,44 Fl 3fach verd. | 0,0044 | 0,0222 | 66,7 | |
| 3h | 0,44 Fl | 0,0034 | 0,0603 | 69,9 | 68,3 |
| | 0,44 Fl 3fach verd. | 0,0044 | 0,0222 | 66,7 | |

Versuch 19: 33 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 2 ccm Regulator ($p_H$ 6,95), 5 ccm Chininlösung (= 10 mg) werden vermischt. Hämatokritwert für rote Blutkörperchen 30%; Außenflüssigkeit 28,0 ccm. — In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurden für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0085, mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0029, $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0048.

Tabelle XXI.

| Zentrifugiert nach | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|---|
| 0' | 0,56 Fl | 0,0047 | 0,0780 | 61,0 | 63 |
| | 0,56 Fl 3fach verd. | 0,0068 | 0,0234 | 64,9 | |
| 20' | 0,56 Fl | 0,0049 | 0,0702 | 64,9 | 66,7 |
| | 0,56 Fl 3fach verd. | 0,0070 | 0,0211 | 68,4 | |
| 50' | 0,56 Fl | 0,0047 | 0,0780 | 61,0 | 63 |
| | 0,56 Fl 3fach verd. | 0,0068 | 0,0234 | 64,9 | |

Man sieht, die Zeit hat keinen Einfluß auf die Chininbindung. Der Vorgang der Verteilung auf Blutkörperchen und Außenflüssigkeit erfolgt mit unmeßbarer Geschwindigkeit.

VI. In allen bisherigen Versuchen erfolgt die Chininbindung bei konstanter Wasserstoffionenkonzentration $p_H = 6,95$. Nachdem wir die ausschlaggebende Rolle gezeigt hatten, die die (H˙) bei der Chininvergiftung von Protozoen und Fermenten spielt[1]), erschien es von Interesse, die Chininbindung bei verschiedenen $p_H$ unter sonst gleichen Bedingungen stattfinden zu lassen.

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 118, 185 (1921).

**Versuch 20:** In 4 Gemischen befinden sich je 12 ccm Hammelblutkörperchensuspension, 1 ccm Chininlösung (= 2 mg) und 2 ccm $^m/_8$-Phosphatgemisch von verschiedener Zusammensetzung. — In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurden für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0064; mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0023; mit $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0038.

Tabelle XXII.

| Phosphatgemisch prim. : sek. | $p_H$ | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 : 7,5 | 8,30 | 1,15 Fl | 0,0031 | 0,1050 | 47,6 |
| | | 1,15 Fl 3fach verdünnt | 0,0044 | 0,0411 | 38,4 |
| 1 : 3 | 7,42 | 1,15 Fl | 0,0031 | 0,1050 | 47,6 |
| | | 1,15 Fl 3fach verdünnt | 0,0045 | 0,0379 | 43,2 |
| 3,6 : 1 | 6,20 | 1,15 Fl | 0,0035 | 0,0759 | 62,0 |
| | | 1,15 Fl 3fach verdünnt | 0,0046 | 0,0348 | 47,6 |

Die Reihe $p_H$ in der Tabelle bedeutet $p_H$ während der Verteilung des Chinins auf Blutkörperchen und Außenflüssigkeit. Die Tributyrinspaltung verläuft bei $p_H$ 7,62. Bei $p_H$ 6,2 und 5,4 geringe Säurehämolyse; ebenso in den folgenden Versuchen.

**Versuch 21:** Zusammensetzung wie in Versuch 20. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 40%. Außenflüssigkeit 9,0 ccm. — In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurden für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0083, mit $^1/_5$ mg Chinin in 60 ccm 0,0029, mit $^1/_{15}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0043.

Tabelle XXIII.

| Phosphatgemisch prim. : sek. | $p_H$ | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 : 7,5 | 8,25 | 0,9 Fl | 0,0051 | 0,0356 | 82,2 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0065 | 0,0119 | |
| 1 : 3 | 7,29 | 0,9 Fl | 0,0050 | 0,0385 | 82,2 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0066 | 0,0110 | |
| 3,6 : 1 | 6,11 | 0,9 Fl | 0,0052 | 0,0329 | 83,6 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0066 | 0,0110 | |
| 20 : 1 | 5,45 | 0,9 Fl | 0,0052 | 0,0329 | 83,6 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0066 | 0,0110 | |

**Versuch 22:** Zusammensetzung wie in Versuch 20 und 21. Hämatokritwert für die roten Blutkörperchen 32%. Außenflüssigkeitsmenge 10,2 ccm. — In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurden für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0049, mit $^1/_5$ mg Chinin für 60 ccm 0,0017, mit $^1/_{15}$ mg Chinin für 60 ccm 0,0028.

Tabelle XXIV.

| Phosphatgemisch prim. : sek. | $p_H$ | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 : 7,5 | 8,33 | 1,02 Fl | 0,003 | 0,0608 | 69,6 | 69,6 |
| | | 1,02 Fl 3fach verdünnt | 0,0041 | 0,0203 | 69,6 | |
| 1 : 3 | 7,28 | 1,02 Fl | 0,0029 | 0,0667 | 66,7 | 73,7 |
| | | 1,02 Fl 3fach verdünnt | 0,0046 | 0,0128 | 80,8 | |
| 3,6 : 1 | 6,14 | 1,02 Fl | 0,0027 | 0,0801 | 60,0 | 61,8 |
| | | 1,02 Fl 3fach verdünnt | 0,0039 | 0,0243 | 63,5 | |
| 30 : 1 | 5,04 | 1,02 Fl | 0,0027 | 0,0801 | 60,0 | 58,1 |
| | | 1,02 Fl 3fach verdünnt | 0,0037 | 0,0292 | 56,1 | |

Versuch 23: Zusammensetzung wie in den Versuchen 20—22. Hämatokritwert für die Blutkörperchen 40%. Außenflüssigkeit 9,0 ccm. — In der Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration wurden für $k$ gefunden: Ohne Chinin 0,0143, mit $^1/_8$ mg Chinin in 60 ccm 0,0049, mit $^1/_{16}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0082.

Tabelle XXV.

| Phosphatgemisch prim. : sek. | $p_H$ | Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Gebunden % | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 : 1,5 | 9,18 | 0,9 Fl | 0,0098 | 0,0391 | 80,4 | 77,4 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0123 | 0,0170 | 74,5 | |
| 1 : 3 | 7,43 | 0,9 Fl | 0,0092 | 0,0478 | 76,1 | 76,8 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0127 | 0,0149 | 77,6 | |
| 3,6 : 1 | 6,18 | 0,9 Fl | 0,0088 | 0,0546 | 72,7 | 75,2 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0127 | 0,0149 | 77,6 | |
| 30 : 1 | 5,03 | 0,9 Fl | 0,0094 | 0,0447 | 77,6 | 77,2 |
| | | 0,9 Fl 3fach verdünnt | 0,0126 | 0,0154 | 76,9 | |

Die Versuche zeigen, daß die Wasserstoffionenkonzentration auf die Chininbindung an die Blutkörperchen keinen Einfluß hat: die Blutkörperchen nehmen Chininsalz wie Chininbase in gleichem Ausmaße auf; sie sind für beide in gleicher Weise permeabel.

VII. Wir haben aus dem vorliegenden Versuchsmaterial den Verteilungskoeffizienten des Chinins für rote Blutkörperchen und Außenflüssigkeit, bezogen auf gleiche Volumteile, berechnet. Die erhaltenen Werte schwanken um einen Mittelwert von 4,2[1]).

---

[1]) Vgl. hierzu Acton und King l. c.

Tabelle XXVI.

| Versuch Nr. | Verhältnis rote Blutkörperchen: Außenflüssigkeit. Vol.-% | Verhältnis der Gewichtsteile Chinin in d. Blutkörperchen: in der Außenflüssigkeit | Teilungskoeffizient |
|---|---|---|---|
| 1 | 24 : 76 | 67,1 : 32,9 | 6,5 |
| 2 | 17 : 83 | 49,5 : 50,5 | 4,8 |
| 3 | 25 : 75 | 62,3 : 37,7 | 5,0 |
| 4 | 48 : 52 | 75,7 : 24,3 | 3,4 |
| 9 | 63 : 37 | 85,0 : 15,0 | 3,3 |
| 10 | 57 : 43 | 67,5 : 32,5 | 1,6 |
| 11 | 34 : 66 | 63,6 : 36,4 | 3,4 |
| 12 | 31 : 69 | 67,1 : 32,9 | 4,5 |
| 13 | 42 : 58 | 79,6 : 20,4 | 5,4 |
| 15 | 31 : 69 | 67,8 : 32,2 | 4,7 |
| 16 | 38 : 62 | 61,1 : 38,9 | 2,6 |
| 17 | 37 : 63 | 76,6 : 23,4 | 5,6 |
| 18 | 34 : 66 | 71,2 : 28,8 | 4,8 |
| 19 | 30 : 70 | 64,2 : 35,8 | 4,2 |
| 20 | 23 : 77 | 45,3 : 54,7 | 2,8 |
| 22 | 32 : 68 | 66,0 : 34,0 | 4,1 |
| 23 | 40 : 60 | 76,6 : 23,4 | 4,9 |

VIII. Schließlich wollen wir noch einige Versuche über die Verteilung des Chinins zwischen Blutkörperchen und Serum im defibriniertem Blut mitteilen.

Versuch 24: 9 ccm defibriniertes Menschenblut, 1 ccm Chininlösung (= 2 mg) werden durchgeschüttelt und dann zentrifugiert. — Das abzentrifugierte Serum wie auch die hämolysierten Blutkörperchen werden getrennt alkalisch gemacht, ausgeäthert, der ätherische Rückstand wie in den Versuchen 5—13 verarbeitet. Hämatokritwert 47%. — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für *k*: Ohne Chinin 0,0129, mit $^1/_8$ mg Chinin in 60 ccm 0,0051, mit $^1/_{24}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0079.

Tabelle XXVII.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | *k* | Chinin mg in 60 ccm | Chinin mg im Serum | Chinin mg in den Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|
| 1,0 Ätherextrakt d. Serums . . . . . | 0,0081 | 0,0362 | 0,36 | — |
| 1,0 „ „ „ 3fach verd. | 0,0107 | 0,0131 | 0,39 | — |
| 1,0 Ätherextr. d. Blutkörp. . . . . . | 0,0051 | 0,1250 | — | 1.25 |
| 1,0 „ „ „ 3fach verd. | 0,0080 | 0,0417 | — | 1,25 |
| | | | Im Mittel: 0,375 | Im Mittel: 1,25 |

Es wurden also von 2 mg Chinin 1,625 mg = 81,2% wiedergefunden. Davon enthielten die roten Blutkörperchen 1,25 mg = 76,9%.

Versuch 25: Anordnung wie im Versuch 24. Hämatokritwert 47%. — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für *k*: Ohne Chinin 0,0129, mit $^1/_8$ mg Chinin in 60 ccm 0,0051, mit $^1/_{24}$ mg Chinin in 60 ccm 0,0079.

Tabelle XXVIII.

| Zugesetzt ccm in 60 ccm | $k$ | Chinin mg in 60 ccm | Chinin mg im Serum | Chinin mg in den Blutkörperchen |
|---|---|---|---|---|
| 1,0 Ätherextrakt d. Serums . . . . . | 0,0082 | 0,0347 | 0,347 | — |
| 1,0 „ „ „ 3fach verd. | 0,0106 | 0,0137 | 0,411 | — |
| 1,0 Ätherextr. d. Blutkörp. . . . . . | 0,0047 | 0,147 | — | 1,47 |
| 1,0 „ „ „ 3fach verd. | 0,0073 | 0,0534 | — | 1,60 |
| | | | Im Mittel: 0,379 | Im Mittel: 1,53 |

Es wurden also von 2 mg Chinin 1,91 mg = 95,5% wiedergefunden. Davon enthielten die roten Blutkörperchen 1,53 mg = 80,1%. Der Teilungskoeffizient berechnet sich aus dem Versuch 24 zu 3,7, aus dem Versuch 25 zu 4,5.

IX. Nach diesen Untersuchungen konnten wir daran gehen, die Verteilung des Chinins im Blute nach intravenöser Zufuhr desselben zu studieren, wobei wir uns — wie bei den bisherigen Versuchen — der oben mitgeteilten biologischen Methode bedienten [1]).

Zu diesem Zwecke wurden Katzen in der Äthernarkose die Halsgefäße freigelegt, in die Vena jugularis in 10 ccm physiol. Kochsalzlösung gelöstes Chinin hydrochlor. injiziert. Zu bestimmten Zeiten nach beendeter Injektion wurden aus der Carotis Blutproben entnommen. Das Blut wurde in mit NaF beschickten Bechergläsern aufgefangen und die Menge durch Wägung bestimmt. In Versuch 26 wurde das Gesamtblut auf Chinin verarbeitet, in den anderen Versuchen Serum, dessen Volumen gemessen wurde, und rote Blutkörperchen getrennt. Der Ätherrückstand wurde mit 1 ccm 0,1 n HCl und Wasser aufgenommen, mit 1 ccm 0,1 n NaOH neutralisiert und auf 10 ccm aufgefüllt. Von der so erhaltenen Flüssigkeit wurden abgemessene Mengen zu den Lipase-Tributyringemischen zugefügt (vgl. Stab 1 in den Tabellen). — Die Gesamtblutmenge wurde zu $^1/_{13}$ des Körpergewichtes angenommen.

Versuch 26: Katze 2800 g. Blutmenge angenommen zu 215 ccm. Injiziert wurden 60 mg Chinin. — Blutentnahme nach 1 Min: 23,1 ccm, nach 21 Min. 35,2 ccm; nach 47 Min. 32,6 ccm. — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für $k$: ohne Chinin 0,007, mit $^1/_5$ mg Chinin in 62 ccm: 0,0018, mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0034, mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0050.

[1]) Bezüglich der Literatur über diesen Gegenstand vgl. Giemsa und Schaumann l. c.; A. Plehn, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene. Beihefte **6**, 145 (1909). Boecker, diese Zeitschr. **103**, 63 (1920). Hartmann und Zila l. c. Retzlaff, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. **22**, 65 (1921). Acton und King l. c.

## Tabelle XXIX.

| Zugesetzt ccm in 62 ccm | k | Chinin mg in 62 ccm | Chinin in den Blutproben mg | | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Chininmenge |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Blutentnahme I 6,0 | 0,0030 | 0,0877 | 0,146 | 0,128 | 1,19 | 2,0 |
| „ I 2,0 | 0,0050 | 0,0222 | 0,111 | | | |
| „ II 6,0 | 0,0034 | 0,0666 | 0,111 | 0,111 | 0,68 | 1,1 |
| „ II 2,0 | 0,0050 | 0,0222 | 0,111 | | | |
| „ III 2,0 | 0,0054 | 0,0169 | 0,084 | | 0,55 | 0,9 |

Versuch 27: Katze 2720 g. Blutmenge angenommen zu 200 ccm. Injiziert 54 mg Chinin. Blutentnahme nach 3 Minuten 24,94 ccm Blut (Serum 13,6 ccm); nach 29 Minuten 29,89 ccm Blut (Serum 19,0 ccm); nach 52 Minuten 18,42 ccm Blut (Serum 13,8 ccm). Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für k: Ohne Chinin 0,0088, mit $^1/_5$ mg Chinin in 65 ccm 0,0032; mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0053; mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0075.

## Tabelle XXX.

| Zugesetzt ccm in 65 ccm | k | Chinin mg in 65 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchenproben | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Chininmenge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 4,0 | 0,0061 | 0,0443 | 0,111 | 0,888 | — | 1,92 | 3,6 |
| Entnahme I Blutkörp. 4,0 | 0,0058 | 0,0516 | 0,129 | — | 1,032 | | |
| Entnahme II Serum 9,0 | 0,0045 | 0,100 | 0,111 | 0,73 | — | 1,22 | 2,3 |
| Entnahme II Blutkörp. 9,0 | 0,0053 | 0,0667 | 0,074 | — | 0,495 | | |
| Entnahme III Serum 9,0 | 0,0048 | 0,0861 | 0,096 | 1,046 | — | 1,98 | 3,7 |
| Entnahme III Blutkörp. 9,0 | 0,0050 | 0,0777 | 0,086 | — | 0,937 | | |

Versuch 28: Katze 4100 g. Blutmenge angenommen zu 315 ccm. Injiziert 100 mg Chinin. Blutentnahme nach 5 Minuten 40,84 ccm Blut (Serum 25,0 ccm); nach 25 Minuten 38,2 ccm Blut (Serum 25,2); nach 60 Minuten 27,09 ccm Blut (Serum 19,6 ccm); nach 85 Minuten 21,93 ccm Blut (Serum (16,6 ccm) — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für k: Ohne Chinin 0,017; mit $^1/_5$ mg Chinin in 63 ccm 0,0045, mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0072, mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0098.

Tabelle XXXI.

| Zugesetzt ccm in 68 ccm | *k* | Chinin mg in 63 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchen-proben | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 7,0 | 0,0084 | 0,0405 | 0,058 | 0,447 | — | 1,04 | 1,04 |
| Entnahme I Blutkörp. 7,0 | 0,0077 | 0,0542 | 0,077 | — | 0,593 | | |
| Entnahme II Serum 7,0 | 0,0054 | 0,141 | 0,20 | 1,64 | — | 2,22 | 2,22 |
| Entnahme II Blutkörp. 7,0 | 0,0079 | 0,0499 | 0,071 | — | 0,582 | | |
| Entnahme III Serum 7,0 | 0,0083 | 0,0423 | 0,06 | 0,696 | — | 1,55 | 1,55 |
| Entnahme III Blutkörp. 7,0 | 0,0078 | 0,0520 | 0,074 | — | 0,858 | | |
| Entnahme IV Serum 7,0 | 0,0085 | 0,0389 | 0,056 | 0,806 | — | 1,64 | 1,64 |
| Entnahme IV Blutkörp. 7,0 | 0,0084 | 0,0405 | 0,058 | — | 0,835 | | |

**Versuch 29: Katze 2440 g. Blutmenge angenommen zu 188 ccm. Injiziert 54 mg Chinin. — Blutentnahme nach 3 Minuten 18,78 ccm Blut (Serum 15,3 ccm); nach 30 Minuten 13,22 ccm Blut (Serum 8,7 ccm); nach 50 Minuten 28,05 ccm Blut (Serum 21,8 ccm). Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für *k*: Ohne Chinin 0,0127; mit $^1/_5$ mg Chinin 0,0039; mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0067; mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0096.**

Tabelle XXXII.

| Zugesetzt ccm in 68 ccm | *k* | Chinin mg in 63 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchen-proben | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 7,0 | 0,0080 | 0,0404 | 0,058 | 0,58 | — | 1,5 | 2,8 |
| Entnahme I Blutkörp. 7,0 | 0,0068 | 0,0642 | 0,092 | — | 0,92 | | |
| Entnahme II Serum 7,0 | 0,0101 | 0,0180 | 0,026 | 0,369 | — | 0,65 | 1,2 |
| Entnahme II Blutkörp. 7,0 | 0,0108 | 0,0137 | 0,020 | — | 0,284 | | |
| Entnahme III Serum 7,0 | 0,0072 | 0,0550 | 0,079 | 0,53 | — | 0,53 | 0,8 |
| Entnahme III Blutkörp. 7,0 | 0,0122 | — | — | — | — | | |

Versuch 30: **Katze 3090 g. Blutmenge angenommen zu 238 ccm. Injiziert 54 mg Chinin. — Blutentnahme nach 1 Minute 30 ccm Blut (Serum 17,4 ccm); nach 23 Minuten 36,66 ccm Blut (Serum 25,4 ccm): nach 48 Minuten 28,86 ccm Blut (Serum 20 ccm). — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für $k$: Ohne Chinin 0,0080; mit $^1/_5$ mg Chinin 0,0023; mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0043; mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0063.**

Tabelle XXXIII.

| Zugesetzt ccm in 63 ccm | $k$ | Chinin mg in 63 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchenproben. | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 7,0 | 0,0042 | 0,0704 | 0,101 | 0,798 | — | 2,09 | 3.9 |
| Entnahme I Blutkörp. 7,0 | 0,0033 | 0,115 | 0,164 | — | 1,295 | | |
| Entnahme II Serum 7,0 | 0,0039 | 0,083 | 0,119 | 0,773 | — | 1,97 | 3,6 |
| Entnahme II Blutkörp 7,0 | 0,0031 | 0,129 | 0,184 | — | 1,196 | | |
| Entnahme III Serum 7,0 | 0,0034 | 0,109 | 0,156 | 1,279 | — | 1.43 | 2,6 |
| Entnahme III Blutkörp 7,0 | 0,0072 | 0,0136 | 0,019 | — | 0,156 | | |

**Versuch 31: Katze 3020 g. Blutmenge angenommen zu 232 ccm. Injiziert 60 mg Chinin.** Blutentnahme nach 0 **Minuten 42,8 ccm Blut (Serum 28,4 ccm); nach** 30 **Minuten 29,7 ccm (Serum 20,3 ccm); nach** 55 **Minuten 23,7 ccm (Serum 17,6 ccm). — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für $k$: Ohne Chinin 0,0083;** mit **$^1/_5$ mg Chinin 0,0019; mit $^1/_{15}$ mg Chinin** 0,0038; mit **$^1/_{45}$ mg** Chinin 0,0059.

Tabelle XXXIV.

| Zugesetzt ccm in 63 ccm | $k$ | Chinin mg in 63 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchenproben | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 7,0 | 0,0036 | 0,0744 | 0,106 | 0,572 | — | 0,85 | 1,4 |
| Entnahme I Blutkörp. 7,0 | 0,0049 | 0,0364 | 0,052 | — | 0,28 | | |
| Entnahme II Serum 7,0 | 0,0041 | 0,0565 | 0,081 | 0,632 | — | 1,37 | 2,3 |
| Entnahme II Blutkörp. 7,0 | 0,0037 | 0,0667 | 0,095 | — | 0,74 | | |
| Entnahme III Serum 7,0 | 0,0053 | 0,0292 | 0,042 | 0,412 | — | 0,72 | 1,2 |
| Entnahme III Blutkörp. 7,0 | 0,0059 | 0,0222 | 0.032 | — | 0,314 | | |

Versuch 32: Katze 2700 g. Blutmenge angenommen zu 208 ccm. Injiziert 60 mg Chinin. Blutentnahme nach 5 Minuten 39,5 ccm Blut (26,6 Serum); nach 30 Minuten 32,5 ccm Blut (24,6 ccm Serum); nach 47 Minuten 18,9 ccm Blut (14,0 ccm Serum). — Die Versuchsreihe zur Eichung der Chininkonzentration ergab für $k$: Ohne Chinin 0,0184; mit $^1/_5$ mg Chinin in 63 ccm 0,0051; mit $^1/_{15}$ mg Chinin 0,0097; mit $^1/_{45}$ mg Chinin 0,0145.

Tabelle XXXV.

| Zugesetzt ccm in 63 ccm | $k$ | Chinin mg in 63 ccm | Chinin mg in den Serum- bzw. Blutkörperchen-Proben | Chinin im Serum des Gesamtblutes mg | Chinin i. den Blutkörperchen des Gesamtblutes mg | Chinin im Gesamtblut mg | % der injizierten Menge |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Entnahme I Serum 7,0 | 0,0078 | 0,104 | 0,149 | 0,79 | — | 1,93 | 3,2 |
| Entnahme I Blutkörp. 7,0 | 0,0062 | 0,151 | 0,216 | — | 1,14 | | |
| Entnahme II Serum 7,0 | 0,0111 | 0,0481 | 0,069 | 0,44 | — | 0,60 | 1,0 |
| Entnahme II Blutkörp. 7,0 | 0,0155 | 0,0172 | 0,025 | — | 0,16 | | |
| Entnahme III Serum 7,0 | 0,0111 | 0,0481 | 0,069 | 0,759 | — | 1,18 | 2,0 |
| Entnahme III Blutkörp. 7,0 | 0,0136 | 0,0268 | 0,038 | — | 0,418 | | |

Aus den Versuchen ergibt sich, daß nach intravenöser Chinininjektion 1—4% der injizierten Menge im Blute sich finden. Das Verschwinden des größten Teiles des Chinins aus dem Blut erfolgt mit außerordentlicher Schnelligkeit, praktisch sofort. Diese Tatsache steht im Einklang mit der mit unmeßbarer Geschwindigkeit erfolgenden Gleichgewichtseinstellung, die wir bei unseren Untersuchungen über die Fermentvergiftung durch Chinin und die Verteilung des Chinins auf Blutkörperchen und Außenflüssigkeit gefunden haben. Man kann daraus auf ein Gleichgewicht zwischen der Chininkonzentration im Blute und der Chininmenge in den Organen schließen[1]). Mit einer Ausnahme (vgl. Versuch 29, Blutentnahme III) wurde das Chinin im Serum sowohl als in den Blutkörperchen gefunden. Versuch 29 und 30 zeigen ein Sinken des Chiningehaltes der Blutkörperchen mit der Zeit, wie es Schnabel[2]) für Optochin beschrieben hat. Unsere

[1]) Vgl. hierzu Giemsa und Schaumann (l. c.), Giemsa (Arch. f. Schiffs- und Tropenhygiene. 1908; Beiheft 5, S. 78), Giemsa und Provacek (ebenda S. 88).

[2]) Diese Zeitschr. 108, 258 (1920) und 112, 112 (1920).

anderen Versuche bestätigen jedoch diese Befunde nicht, sondern stehen im Einklang mit unseren Versuchen in vitro, in denen der Chiningehalt der roten Blutkörperchen bei konstantem Chiningehalt der Außenflüssigkeit konstant blieb. Von diesen beiden Ausnahmen abgesehen, entsprechen der Chiningehalt des Serums und der der roten Blutkörperchen etwa dem Teilungskoeffizienten, den wir in unseren Versuchen in vitro gefunden haben, so daß die Chininkonzentration in den Blutkörperchen relativ hoch ist.

## Zusammenfassung.

1. Es wird eine biologische Methode angegeben, die gestattet geringe Chininmengen (bis 0,0021 mg in 10 ccm Flüssigkeit) quantitativ zu bestimmen.

2. Werden rote Blutkörperchen mit einer Lösung von Chininum hydrochl. in physiologischer Kochsalzlösung vermischt, so werden nennenswerte Chininmengen in die Blutkörperchen aufgenommen.

3. Es gelingt, 80—90% der gebundenen Chininmenge in den Blutkörperchen nachzuweisen.

4. Bei der Verteilung des Chinins zwischen Blutkörperchen und Außenflüssigkeit stellt sich ein reversibles Gleichgewicht ein. Aus verschiedenen Chininkonzentrationen in der Außenflüssigkeit binden die roten Blutkörperchen gleiche prozentuale Mengen. Diese Verteilung erfolgt mit nicht meßbarer Geschwindigkeit; sie ist von der Wasserstoffionenkonzentration des Systems unabhängig. Der Verteilungskoeffizient betrug in den vorliegenden Versuchen (Blutkörperchen: Außenflüssigkeit) im Durchschnitt 4.

5. Die Verteilung des Chinins zwischen Blutkörperchen und Serum erfolgt in derselben Weise wie in den Versuchen an Blutkörperchensuspensionen.

6. Nach intravenöser Chinininjektion findet man 1—4% der injizierten Menge im Blute wieder. Das Verschwinden des größten Teiles des Chinins aus dem Blute erfolgt mit unmeßbarer Geschwindigkeit.

# Ein Vorlesungsversuch zur Demonstration der Abhängigkeit der antiseptischen Wirksamkeit der Hg-Verbindungen vom Dissoziationsgrade der Hg-Ionen.

Von

**G. Joachimoglu.**

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.)

*(Eingegangen am 8. Juni 1921.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

Die grundlegenden Untersuchungen von Krönig und Paul[1]) über die im Titel genannte Tatsache werden wohl in jeder Vorlesung über experimentelle Pharmakologie ausführlich erörtert. Erfahrungsgemäß sind den Studierenden die für das Verständnis dieser Dinge erforderlichen Begriffe aus der physikalischen Chemie wenig bekannt und der Wunsch ist berechtigt, ihnen durch Demonstrationen das Verständnis zu erleichtern. So lehrreich die Originaluntersuchungen von Krönig und Paul sind, zur Demonstration in der Vorlesung sind sie wenig geeignet, weil sie lange Vorbereitungen mit Bakterienkulturen erfordern und weil ihr Resultat, Platten mit wenigen oder zahlreichen Kolonien, dem unerfahrenen Studierenden wenig in die Augen springt.

Wir haben eine Versuchsanordnung mit Hefe in gewöhnlichen Gärungsröhrchen ausgearbeitet, welche als Vorlesungsversuch sehr geeignet ist. Wir füllten Gärungsröhrchen mit einer Mischung von 10 ccm Traubenzucker, 3 ccm einer 20 proz. Hefeaufschwemmung und die entsprechenden Mengen einer 0,1 proz. Sublimat- oder Quecksilbercyanidlösung. Einige Sublimatröhrchen ent-

[1]) B. Krönig und Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 25, 1. 1897.

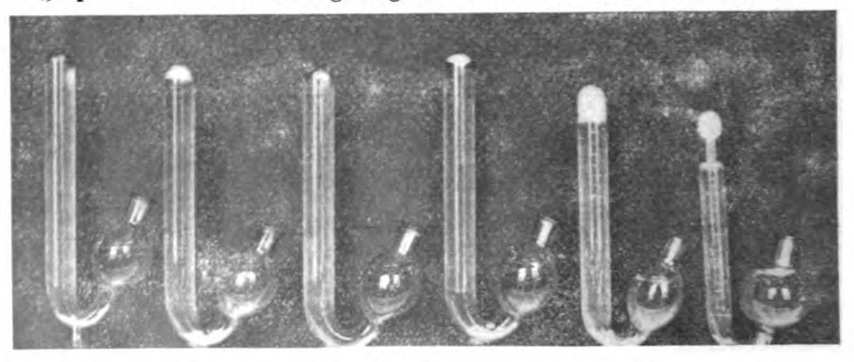
hielten außerdem Kochsalz, das Ganze wurde mit Leitungswasser auf 30 ccm aufgefüllt. Für die Hefeaufschwemmung und die Traubenzuckerlösung wurde ebenfalls Leitungswasser genommen. Die Röhrchen blieben im Zimmer bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Aus einer Reihe von Versuchen haben wir einen in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle I.

| Nr. | 8 proz. Traubenzucker in Leitungswasser | 20 proz. Hefe in Leitungswasser | Sublimat 1:1000 in aqua dest. | $HgCN_2$ 1:1000 in aqua dest. | 20 proz. NaCl in aqua dest. | Leitungswasser | NaCl-Konzentration | $CO_2$ nach 2 Stunden | $CO_2$ nach 6 Stunden |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 10 | 3 | 2 | — | — | 15 | — | 0*) | 0 |
| B | 10 | 3 | 2 | — | 4 | 11 | 1 : 37 | + | + + |
| C | 10 | 3 | 2,1 | — | — | 14,9 | — | 0 | 0 |
| D | 10 | 3 | 2,1 | — | 4 | 10,8 | 1 : 37 | + | + + |
| E | 10 | 3 | — | 1,9 | — | 15,1 | — | + + | + + |
| F | 10 | 3 | — | — | — | 17 | — | + + | + + + |

*) 0 = keine Gärung, + = ganz schwache, + + schwache, + + + = starke Gärung.

Wir haben die Gärungsröhrchen nach 5 Stunden photographiert. Die Abbildung zeigt uns, daß in dem Röhrchen *A*



*A* Hg 1 : 20300 als $HgCl_2$ — *B* Hg 1 : 20300 als $HgCl_2$ + NaCl 1 : 37 — *C* Hg 1 : 18950 als $HgCl_2$ — *D* Hg 1 : 18950 als $HgCl_2$ + NaCl 1 : 37 — *E* Hg 1 : 19830 als $HgCN_2$ — *F* Kontrolle

keine $CO_2$-Bildung erfolgt ist, während bei der gleichen Sublimatkonzentration + NaCl eine deutliche Kohlensäureproduktion stattgefunden hat. Dasselbe Resultat zeigen uns die Röhrchen *C* und *D*. Bei *E* haben wir eine Hg-Konzentration von 1 : 19830 in Form von $HgCN_2$. Die Konzentration ist etwas niedriger als in den

Röhrchen *A* und *B* und etwas höher als in *C* und *D*. Im Röhrchen *E* hat sich wesentlich mehr Kohlensäure angesammelt, als in den Röhrchen *B* und *D*. Selbstverständlich ist die Kohlensäuremenge am stärksten in dem Kontrollröhrchen *F*. Die oben angegebenen Sublimat- bzw. Quecksilbercyanidmengen sollen nur annähernde Werte darstellen. Auch bei etwas geringeren und höheren Konzentrationen haben wir in anderen Versuchen deutliche Resultate bekommen. Auf eine quantitative Bestimmung der Kohlensäure haben wir verzichtet, weil dazu eine immerhin etwas komplizierte Apparatur nötig ist. Instruktiver ist der Versuch, wenn nicht nur eine seiner Phasen, wie das hier beabsichtigt ist, in der Vorlesung gezeigt wird, sondern der Studierende den Verlauf der Gärung verfolgt. Man sieht z. B., daß auch in den Röhrchen *A* und *C* nach etwa 20 Stunden eine minimale Gärung stattgefunden hat und daß in den andern Röhrchen entsprechend mehr Kohlensäure zu beobachten ist. In einem pharmakologischen Praktikum, wo mehr Zeit zur Verfügung steht, kann vielleicht den Studierenden auch Gelegenheit gegeben werden, den Verlauf der Gärung zu verfolgen.

Der beschriebene Versuch ist also geeignet, die Tatsache zu demonstrieren, daß erstens bei Zusatz von Kochsalz zu Sublimatlösungen durch die Abnahme des Dissoziationsgrades der Hg-Ionen, die antiseptische Wirksamkeit abnimmt und daß zweitens Hg-Verbindungen (z. B. Quecksilbercyanid), die wenig dissoziieren, bei gleicher Hg-Konzentration eine schwächere antiseptische Wirksamkeit zeigen.

---

# Der Doppelstickstoff, ein Diagnostikum für endogenen Eiweißzerfall, insbesondere für okkulte eitrige Prozesse[1]).

Von

**Arnold Hahn** (Berlin).

(Aus dem Krankenhaus der jüdischen Gemeinde Berlin.)

*(Eingegangen am 8. Juni 1921.)*

## A. Diagnostischer Teil.

Das Ziel der pathologischen Chemie ist es, die Krankheit aus dem chemischen Zustande des Organismus zu erkennen.

Aber nur die Bestimmung des Zuckers, des Reststickstoffs, des Bilirubins, kaum noch der Harnsäure gibt uns gewisse Andeutungen über Art und Verlauf einer Krankheit. Und doch sind gerade im Blute alle jene Stoffe vereinigt, die Sein und Werden eines Individuums bedeuten, und es müßte möglich sein, auf Grund feinster Analysen der Blutbestandteile den Zustand des Organismus, insbesondere die Art und den Verlauf einer Krankheit wie aus einer exakten Formel abzulesen. Als eine Etappe zu diesem Ideale scheint mir eine Einteilung der uns bekannten Krankheiten in Gruppen mit gemeinsamen chemischen Merkmalen nötig zu sein. Nur auf diesem systematischen Wege wird sich das Chaos lichten können.

In der vorliegenden Arbeit glaube ich ein solches chemisches Merkmal für alle jene Krankheiten angeben zu können, die auf einem endogenen parenteralen Eiweißzerfall, insbesondere auf einer Eiterung beruhen oder damit einhergehen.

Findet im Organismus ein parenteraler Eiweißzerfall statt, so muß das Blut die Aufgabe, die bei Eiweißzufuhr per os von Magen und Darm erfüllt wird, nämlich den Abbau des Eiweißes, selbst übernehmen. Während also in normalem Zustande nur die vom Darm gelieferten niedersten Abbauprodukte des Eiweißes im Blute zu finden sind, wird man annehmen können, daß bei

[1]) Eine kurze Mitteilung über Methode und Resultate habe ich in der Sitzung vom 14. I. 1921 der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin gemacht.

endogenem parenteralem Eiweißzerfall auch die höheren Stufen des Abbaues nachweisbar sein werden. Man wird also nicht nur Aminosäuren, sondern voraussichtlich auch Polypeptide, Peptone, Albumosen, Reste der Nucleoproteide usw. feststellen können. Dieser einfache Gedankengang veranlaßte mich, nach diesen Körpern im Blute zu suchen. Die ziemlich große Anzahl von Arbeiten, die sich in den letzten dreißig Jahren mit dem Nachweise besonders der Albumosen und Peptone im Blute befaßt hatte, konnte mir nicht viel Anhaltspunkte geben. Denn de Schlüssel zur Lösung des Problems, eine einwandfreie und bequeme Methode zur Erkennung der höheren Abbauprodukte, war nicht vorhanden und noch viel weniger eine zu ihrer quantitativen Bestimmung. Dies ist auch der Grund, warum über das Vorkommen dieser Körper unter pathologischen Verhältnissen nichts Sicheres und Einwandfreies in der Literatur vorhanden ist.

Ich werde weiter unten auf die von mir angewandte Methode näher eingehen und will vorläufig nur kurz ihr Prinzip skizzieren. Dieses beruht auf der Anwendung zweier Eiweißfällungsmittel bei der Analyse des Blutserums, von denen das eine nur Eiweiß, das andere Eiweiß und seine Abbauprodukte niederschlägt. Indem man nun zwei gleichgroße Portionen Serum mit je einem dieser Mittel behandelt und getrennt den Stickstoff der eiweißfreien Filtrate bestimmt, ergibt sich folgendes Bild:

| | |
|---|---|
| Serum minus Eiweiß | $= m$ |
| Serum minus (Eiweiß plus Abbauprodukte) | $= n$ |
| Abbauprodukte | $= m - n.$ |

$m - n$ entspricht also dem Stickstoff der Abbauprodukte. Es ist die Differenz zweier Stickstoffbestimmungen und ich nenne daher diese Zahl der Kürze wegen: Doppelstickstoff (D.N.). D.N. ist also die Maßzahl für die im Blute vorhandenen Abbauprodukte. Aber auch das Verhältnis von $m$ zu $(m - n)$, scheint von diagnostischem Werte zu sein. Es stellt das Verhältnis von Reststickstoff zu Doppelstickstoff dar (R.N./D.N.).

Ich hatte die Möglichkeit, meine Annahme über die Bedeutung des D.N. an etwa 200 Seren zu prüfen[1]). Ich konnte dabei feststellen, daß in normalen Seren und in Seren von Kranken ohne parenteralen Eiweißzerfall D.N. höch-

[1]) Das Material verdanke ich der inneren, äußeren und gynäkologischen Abteilung des Krankenhauses der jüdischen Gemeinde Berlin.

**stens auf 10 ansteigt. Das heißt in 100 ccm solcher Sera beträgt der D.N. höchstens 10 mg. Dagegen fand ich bei Seren von Kranken, deren Krankheit einen parenteralen Eiweißzerfall bedingt, stets für D.N. eine Zahl, die 10 überstieg.** Die Diagnosen wurden mir von den Klinikern meistens erst nach Bestimmung der D.N. mitgeteilt. Vielfach wurden sie durch Sektion oder Operation erhärtet.

Nierenkrankheiten.

| | Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|---|
| 1. | Pyelitis | 31 | 162/31 |
| 2. | „ | 34 | 140/34 |
| 3. | „ | 19 | 58/19 |
| 4. | „ | 16 | 47/16 |
| 5. | Tuberkul. Nephritis | 31 | 90/31 |
| 6. | Nephrolithiasis | 16 | 72/16 |
| 7. | „ | 15 | 62/15 |
| 8. | Nierenblutung | 14 | 51/14 |
| 9. | Nephrose | 12 | 98/12 |
| 10. | Urämie | 22 | 170/22 |
| 11. | „ | 36 | 270/36 |
| 12. | Quecksilbernephritis | 11 | 47/11 |
| 13. | Nierentumor | 20 | 48/20 |
| | Dagegen: | | |
| 14. | Schwangerschaftsnephritis | 3 | 39/3 |
| 15. | Nephritis | 7 | 47/7 |
| 16. | „ | 7 | 47/7 |
| 17. | „ | 7 | 47/7 |
| 18. | „ | 7 | 115/7 |
| 19. | „ | 8 | 117/8 |
| 20. | „ | 10 | 56/10 |
| 21. | „ | 3 | 84/3 |
| 22. | Diabet. Nephritis | 5 | 39/5 |
| 23. | Nephritis m. Urämie | 11 | 196/11 |
| 24. | Idem unmittelbar nach der Operation | 40 | 210/40 |

Bemerkung: Einfache Entzündungen der Niere zeigen einen D.N. $< 10$. Selbst bei hohem Anstieg des R.N. bleibt D.N. gering. Mit Eiterungen oder Gewebszerfall einhergehende Nierenkrankheiten zeigen einen D.N. $> 10$. Interessant sind die Fälle 23 und 24 einer nephritischen Urämie. Vor der Operation hoher R.N., niedriger D.N. Nach der Operation bleibt der R.N. in Anbetracht seiner absolut hohen Zahl auf annähernd gleicher Höhe, während der D.N. auf 40 emporschnellt. Infolge der entstandenen Wunde und Blutung ist der Organismus gezwungen, Eiweiß abzubauen. Interessant ist auch ein Fall von Nierentumor:

Vor der Operation D.N. 19 : R.N./D.N. 58/19.

Nach der Operation konnte leider eine Analyse nicht vorgenommen werden. Nach vollständiger Heilung der Wunde jedoch ergab sich das Bild: D.N. 5; R.N./D.N. 36/5.

Nach Verschwinden der Eiterung und Wunde normale Befunde.

Tuberkulose.

| Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|
| 1. Lunge | 19 | 58/19 |
| 2. „ | 23 | 59/23 |
| 3. Tuberkul. Rückgratverkrümm. | 14 | 64/14 |

Vgl. auch Fall 5. unter Nieren.

In diesen wenigen Fällen zeigt sich durchwegs eine ziemlich starke Erhöhung des D.N. Mein Material war allerdings zu gering, um feststellen zu können, ob dies schon in den ersten Stadien der Erkrankung der Fall ist, was natürlich von größtem Werte wäre. Es ist überdies dringend nötig, das Verhalten des D.N. bei den verschiedenen Formen der Tuberkulose näher kennen zu lernen.

Carcinom.

| Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|
| 1. Subaxillar-Bubo | 16 | 47/16 |
| 2. Mamma | 17 | 50/17 |
| 3. Kachexie | 14 | 53/14 |
| 4. Magen | 0 | 50/0 |
| 5. „ | 0 | 50/0 |

Es scheint, daß bei Carcinom im ulcerierenden Stadium D.N. $> 10$, im Stadium der bloßen Wucherung D.N. $< 10$ ist. Zu beachten ist die ziemliche Konstanz der Höhe des R.N

Verschiedene Eiterungen

| Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|
| 1. Becken | 14 | 61/14 |
| 2. Fuß | 25 | 67/25 |
| 3. „ | 17 | 50/17 |
| 4. Zunge, Kehldeckel | 20 | 56/20 |
| 5. Gehirnbasis | 22 | 64/22 |
| 6. Karbunkel | 20 | 50/20 |

Ulcus ventriculi.

| Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|
| 1. Ulcus ventriculi | 31 | 89/31 |
| 2. „ „ | 21 | 58/21 |
| 3. ? | 8 | 36/8 |

Verschiedene Krankheiten mit erhöhtem D.N.

| | Diagnose | D.N. | R.N/D.N.. |
|---|---|---|---|
| 1. | Bronchopneumonie . . . . . | 17 | 56/17 |
| 2. | Apoplexie . . . . . . . . . . | 16 | 79/16 |
| 3. | Gallenentzündung mit sept. Verlauf . . . . . . . . . . . . | 14 | 63/14 |
| 4. | Grippe . . . . . . . . . . . | 25 | 64/25 |
| 5. | Colitis . . . . . . . . . . . | 14 | 47/14 |
| 6. | „ . . . . . . . . . . . | 12 | 48/12 |
| 7. | Cerebrospinalsklerose . . . . | 17 | 75/17 |
| 8. | Rippenbruch . . . . . . . . | 22 | 50/22 |
| 9. | Lues II . . . . . . . . . . | 12 | 59/12 |

Verschiedene Krankheiten mit normalen D.N.

| | Diagnose | D.N. | R.N./D.N. |
|---|---|---|---|
| 1. | Atherosklerose . . . . . . . . | 3 | 31/3 |
| 2. | Gasvergiftung . . . . . . . . . | 3 | 36/3 |
| 3. | Gicht . . . . . . . . . . . . | 3 | 42/3 |
| 4. | Cholämie . . . . . . . . . . . | 3 | 33/3 |
| 5. | Herzneurose . . . . . . . . . | 0 | 36/0 |
| 6. | Appendicitis ohne Eiterung . . . | 3 | 50/3 |
| 7. | „ „ „ . . . | 4 | 44/6 |
| 8. | Coxitis . . . . . . . . . . . . | 0 | 36/0 |
| 9. | Cholecystitis . . . . . . . . . | 0 | 39/0 |
| 10. | Trichinose . . . . . . . . . . | 0 | 100/0 |
| 11. | Lues III . . . . . . . . . . . | 0 | 50/0 |
| 12. | „ . . . . . . . . . . . | 0 | 50/0 |
| 13. | „ . . . . . . . . . . . | 5 | 53/5 |
| 14. | Degeneratio cordis . . . . . . | 8 | 44/8 |
| 15. | Cystitis . . . . . . . . . . . | 5 | 39/5 |
| 16. | Hysterie . . . . . . . . . . . | 3 | 39/3 |
| 17. | Psychose . . . . . . . . . . . | 6 | 40/6 |
| 18. | Icterus . . . . . . . . . . . | 5 | 59/5 |
| 19. | „ . . . . . . . . . . . | 6 | 50/6 |
| 20. | „ . . . . . . . . . . . | 6 | 50/6 |
| 21. | Gelenkrheumatismus . . . . . . | 7 | 44/7 |

Entbindung: In den wenigen Fällen, die zu beobachten ich Gelegenheit hatte, war vor und während der Entbindung D.N. normal, nach der Entbindung erhöht.

## B. Chemischer Teil.

Der Nachweis der höheren Abbauprodukte des Eiweißes ist bisher im Blute nicht mit Sicherheit gelungen. Der Grund hierfür liegt darin, daß alle Autoren, die diese Frage behandelt haben, Methoden anwandten, gegen die Einwände erhoben werden können. Die

Hauptaufgabe bei diesen Untersuchungen liegt darin, in vollkommen einwandfreier Weise die Abbauprodukte von ihrer Muttersubstanz, dem Eiweiße, zu trennen, und in diesem Punkte versagten wohl alle Methoden. Die meisten Forscher bedienten sich bei der Fällung des Eiweißes des Kochens mit oder ohne Beigabe von fällenden Substanzen. Diese Operation mußte schon von allem Anfang an die Resultate unsicher machen, da hierbei eine Hydrolyse des Eiweißes wohl kaum zu vermeiden ist da ferner die Abbauprodukte sodann mit Hilfe der Biuret-Reaktion nachgewiesen werden sollten, so war bei der Feinheit dieser Reaktion ein positives Resultat nie beweiskräftig. Man ist bisher bei dem Nachweis der Abbauprodukte eigentlich nie über eine auf umständlichen Wegen erzielte qualitative Reaktion herausgekommen, eine Reaktion, die, wie bereits erwähnt, unsicher war. Da aber anzunehmen ist, daß sich auch unter normalen Verhältnissen Abbauprodukte im Blute vorfinden werden, erhält ihr Nachweis für Physiologie und Pathologie erst Wert, wenn er zu einem quantitativen gestaltet wird.

Nun ist eine quantitative Fällung des Eiweißes in Blut und Serum auch für die Reststickstoffbestimmung von größter Wichtigkeit, da ja auch hier die gefundenen Werte von dem mehr oder weniger quantitativen Verlauf der Fällung des Eiweißes abhängen. Im letzten Dezenium hat eine große Reihe von Forschern die fällenden Eigenschaften einer ganzen Anzahl von Substanzen und Substanzgemischen studiert, ohne allerdings zu einem feststehenden Resultate zu kommen. Auch ich habe mich mit dieser Frage befaßt und im Verlaufe dieser Untersuchungen schien es mir möglich, zwei Fällungsmittel zu finden, von denen das eine Eiweiß, das andere sowohl Eiweiß als auch seine Abbauprodukte fällt. Auf diese Weise hätte man durch zwei Analysen die Abbauprodukte bestimmen können. Ich war mir dabei von allem Anfang an bewußt, daß sowohl die Substanzen, die ich als Eiweiß fällte, als auch jene, die ich als „Abbauprodukte" bestimmte, keinesfalls vollständig in den exakten chemischen Rahmen dieser beiden Begriffe fallen würden; aber es war bei richtiger Wahl der Fällungsmittel und bei Auftreten von Gesetzmäßigkeiten bei ihrer Verwendung in der Pathologie immerhin anzunehmen, daß die gefundenen Werte sich auf Körper beziehen müßten, welche sich eng um die beiden Begriffe gruppieren.

Bei der Ausarbeitung eines Verfahrens zur Mikrobestimmung des Reststickstoffs[1]) hatte ich mich als Fällungsmittels eines Phosphor-Wolframsäuregemisches bedient, von dem ich wußte, daß es ein starkes Fällungsvermögen für Eiweiß und eiweißartige Substanzen besitze. Andererseits war schon recht lange bekannt, daß die Trichlor-Essigsäure ein geringeres Fällungsvermögen zeigt. Dies wurde schon von Starling[2]) festgestellt. In neuerer Zeit machten Feigl sowohl als auch Sjollema und Hesserschy[3]) vergleichende Versuche über Reststickstoffwerte bei Fällung mit Trichloressigsäure und Phosphormolybdänsäure. Feigl glaubt festgestellt zu haben, daß die Differenzen bei hohen Reststickstoffwerten hoch, bei niederen Reststickstoffwerten niedrig seien, eine Feststellung, die wohl keine allgemeine Gültigkeit hat. Zur Klarstellung der Frage, ob mein Phosphor-Wolframsäuregemisch und die Trichloressigsäure die von mir erwarteten Fällungseigenschaften haben, bediente ich mich der Hydrolyse des Caseins. Ich konnte dabei beobachten, daß schon nach kurzer Hydrolyse Substanzen auftraten, die wohl durch Phosphor-Wolframsäuremischung, nicht aber durch Trichloressigsäure fällbar waren. Wurde eine solche Caseinlösung mit Trichloressigsäure versetzt und der entstehende Niederschlag entfernt, so konnte im Filtrate durch Zusatz von Phosphor-Wolframsäuremischung eine neuerliche Fällung hervorgerufen werden. Die ausfallenden Körper waren durchwegs Substanzen, von Albumosen und Peptoncharakter. Der Verlauf der Hydrolyse konnte auf diese Weise quantitativ verfolgt werden, bis zu dem Punkte, wo auch durch Phosphor-Wolframsäuremischung keine Fällung mehr erfolgte, d. h. bis zum Abbau des Eiweißes in seine einzelnen Bausteine. Da ich bewiesen hatte, daß die Phosphor-Wolframsäuremischung weder Ammoniak noch Harnsäure noch Kreatinin fällt, glaubte ich nunmehr die beiden richtigen Fällungsmittel für meine Methode der Bestimmung der höheren Abbauprodukte des Eiweißes gefunden zu haben und habe sie, wie bereits im ersten Teil dieser Arbeit mitgeteilt, zur Analyse der verschiedensten Sera benützt.

---

[1]) Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 16. Die Arbeit sollte richtiger „Mikrobestimmung des Reststickstoffs" heißen. Vgl. auch diese Zeitschr. **105**, 220. 1920.

[2]) Journ. of physiol. 1893.

[3]) Diese Zeitschr. **84**, 371. 1917.

Die Idee der Bestimmung der Abbauprodukte durch Doppelfällung war nun aber gleichzeitig mit mir auch von anderer Seite gefaßt und ausgeführt worden, und durch einen eigenartigen Zufall erhielt ich davon Kenntnis. Herr Dr. Erich Wolff, der zu Fortbildungszwecken nach Berlin gekommen war und mit dem ich das Vergnügen hatte, eine Arbeit über Cholesterinämie auszuführen, überreichte mir seine in schwedischer Sprache geschriebene Doktorarbeit[1]), die sich auf Anregung von Bang mit demselben Thema in ähnlicher Ausführungsform wie meine zu dieser Zeit schon beendeten Untersuchungen befaßte. Es ist nun nötig, daß ich unsere beiden unabhängig voneinander ausgeführten Arbeiten vergleiche, schon aus dem Grunde, weil wir zu verschiedenen Resultaten gelangt sind. Wolff bedient sich zur Reststickstoffbestimmung der Bangschen Mikromethode und als Fällungsmittels der Phosphormolybdänsäure und der Metaphosphorsäure. Daraus ergeben sich, wie mir scheint, folgende Fehlerquellen, welche die Discrepanz unserer Resultate erklären. Die Bangsche Methode verwendet Gesamtblut zur Reststickstoffbestimmung. Ich verwende Serum. In einer Reihe von Versuchen konnte ich nun feststellen, daß sich die höheren Abbauprodukte des Eiweißes unter pathologischen Verhältnissen hauptsächlich im Serum befinden. Dagegen befinden sich in normalem Blute die Abbauprodukte hauptsächlich in den Blutkörperchen. Dies ist dadurch zu erklären, daß diese Substanzen in den Blutkörperchen nicht so sehr Abbauprodukte als vielmehr Aufbauprodukte sind, das heißt werdendes Eiweiß. So fand ich,

D.N. im Gesamtblut (normal) . . . 7
" " Serum (normal) . . . . . 0
" " Gesamtblut (normal) . . . 8
" " Serum (normal) . . . . . 2

Dagegen:

D.N. im Gesamtblut (Pyelitis) . . . 18
" " Serum (Pyelitis) . . . . . 31
" " Gesamtblut (Nierentumor). 10
" " Serum (Nierentumor) . . . 20

[1]) Die sorgfältige und schöne Arbeit heißt: Om forekomsten av albumosliknande Substansea i blodet. Lund 1920.

Aus diesen Ergebnissen folgt, daß nur das Serum den klaren Spiegel des pathologischen Zustandes darstellt, während die Bestimmung des D.N. im Gesamtblute ein vollkommen unscharfes Bild ergibt. Nun bedingt aber die Bangsche Methode durch ihre Anwendungsform selbst einen Fehler. Die mit Blut getränkten Filterblättchen werden an der Luft getrocknet und dann in die Fällungsflüssigkeit eingelegt. Das Eiweiß koaguliert von der Oberfläche aus und umhüllt so die inneren Partien des Aufgesaugten. Die zu bestimmenden Substanzen müssen also durch das Eiweißcoagulum hindurchdiffundieren. Es ist klar, daß die höheren Abbauprodukte des Eiweißes, wenn sie überhaupt diffundieren können, infolge ihrer kolloidartigen Beschaffenheit nur äußerst schwer die umgehende Eiweißmembran passieren werden. Es ist also sehr schwierig, den Zeitpunkt der beendeten Diffusion zu treffen, wenn diese überhaupt quantitativ erfolgt. Deshalb glaube ich, daß selbst bei zweitägigem Stehenlassen, wie es Wolff macht, keineswegs die Gewähr quantitativer Erfassung dieser Körper gegeben ist. Hierzu kommt noch, daß die verwendete Metaphosphorsäure eine recht unbeständige Lösung darstellt, die kaum drei Tage haltbar ist und überdies unter gewissen Bedingungen die Eigenschaft hat, im Überschuß Eiweiß zu lösen. Schließlich ist noch zu berücksichtigen, daß es sich bei der Mikrobestimmung des Doppelstickstoffs um eine exakte Bestimmung von Hundertstelmilligrammen handelt und daß demnach bei Anwendung so geringer Substanzmengen, wie sie Bang vorschreibt, die Fehlergrenzen zu groß werden, um so mehr, als bei der jodometrischen Titration mit einigen recht labilen Substanzen gearbeitet wird (Thiosulfat!).

Mußten also schon die angewandten Methoden eine Verschiedenheit unserer Resultate bedingen, so tat dies auch zu einem nicht geringen Teil die Verschiedenheit unserer Fragestellung. Während ich den vielumfassenden Begriff des parenteralen Gewebszerfalls mit dem Auftreten der Abbauprodukte verband, hatte Wolff, bestimmt durch die Arbeiten von Krehl, Mathes, Schulthess, v. Aldor, Ehrström usw. über das Vorkommen von Albumosen im Urin bei Fieberkrankheiten, sein Hauptaugenmerk auf diesen Krankheitsvorgang gerichtet und danach die Wahl der zu untersuchenden Fälle getroffen. Er konnte dabei nur nachweisen, daß das Fieber weder von der Albumos-

ämie, noch die Albumosämie vom Fieber bedingt wird. Bei den wenigen anderen Krankheitsfällen, die er untersucht hat, kommt er zu keinen einheitlichen Resultaten. Nur bei Typhus findet er bei Fieber konstant eine Hyperalbumosämie. Dies ist nach meiner Annahme vorauszusehen, denn die vorhandenen Darmgeschwüre müssen eine Hyperalbumosämie erzeugen. In den Fällen, bei denen Wolff keine Vermehrung der Blutalbumosen gefunden hat, waren die Geschwüre sicherlich schon abgeheilt. Ich selbst hatte leider keine Gelegenheit, Typhusfälle zu untersuchen.

**Ausführung der Bestimmung**[1]).

In zwei kleine Bechergläschen oder zwei cylindrische Zentrifugenröhrchen von etwa 2 cm Durchmesser mißt man mittels feiner Pipette genau je 1 ccm Serum ab. In das Röhrchen *A* gibt man 7 ccm dest. Wasser und hierauf unter Umschütteln tropfenweise 2 ccm Phosphorwolframsäuremischung[2]). In das Röhrchen *B* gibt man ebenfalls unter Umschütteln tropfenweise 9 ccm $2^1/_2$ proz. Trichloressigsäure. Die beiden Fällungen werden durch kleine Trichterchen in 2 gewöhnliche Reagenzgläser abfiltriert. Von den beiden Filtraten (wenn nicht klar, noch einmal filtrieren!) werden je 5 ccm entsprechend $^1/_2$ ccm Serum zur Kjeldahlverbrennung verwendet. Ich setze meine Mikromethode der Stickstoffbestimmung[2]) kurz im Umriß noch einmal her: 5 ccm des Filtrats in einen Kjeldahlkolben von 200 ccm einbringen, einige Körnchen wasserfreies Kupfersulfat, eine größere Messerspitze wasserfreies Kaliumsulfat und 1 ccm konz. Schwefelsäure zusetzen. Mit starker Flamme den von der Flüssigkeit bedeckten Boden des Kolbens erhitzen. Wo kein Abzug vorhanden, kann die Verbrennung ohne Belästigung der Atmungsorgane ausgeführt werden, wenn man einen „Dampfschlucker"[3]) benützt. Sobald die Verbrennung beendet, destilliert man in einfacher Weise genau nach den Angaben der zitierten Arbeit und titriert die $^n/_{100}$-Säure mit Hilfe des angegebenen Indikators.

---

[1]) Vollkommene Reinheit aller Reagenzien ist erste Bedingung dieser Analyse.

[2]) Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 16. 1920.

[3]) Dtsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 16. Es ist bei der Bestellung des Apparates stets der Zusatz „mit Schliff" zu machen. Nur diese Apparate sind für Kjeldahlbestimmungen verwendbar.

Die Empfindlichkeit des Indikators wurde in letzter Zeit bestritten. Ich bemerke, daß er von mir hundertfach geprüft worden ist. Für sein gutes Funktionieren ist aber, wie sich das im Verlaufe der angegebenen Mikrobestimmung von selbst ergibt, immer die Anwesenheit einer gewissen Menge Alkohol notwendig. Die gefundene Anzahl Kubikzentimeter verbrauchte Säure wird mit 28 multipliziert und ergibt ohne weiteres die Anzahl der Milligramme Stickstoff in 100 ccm mit Phosphorwolframsäure resp. Trichloressigsäure behandelten Serums. Die Differenz der bei Anwendung dieser beiden Fällungsmittel erhaltenen zwei Zahlen ist die Stickstoffzahl für die Abbauprodukte. Als R.N. habe ich meinen Tabellen stets die mit Trichloressigsäure gefundene Zahl angegeben. Die mit Phosphorwolframsäuremischung gefundene erhält man durch Subtraktion von D.N. von R.N.

Beispiel: Gefunden A: 2,4 ccm; B: 3,2 ccm, 2,4 · 28 = 67,2; 3,2 · 28 = 89,6; 89,6 — 67,2 = 22,4. D.N. = 22,4 R.N./D.N. = 89,6/22,4.

Schlußbemerkung: Ich bin nicht im Zweifel darüber, daß meine 200 Analysen nur ein bescheidenes Beweisstück für die Bedeutung des Doppelstickstoffs abgeben und daß es noch sehr vieler Untersuchungen bedürfen wird, um seine diagnostische Eigenart und Schärfe zu ermitteln. Es wird nicht nur nötig sein, die verschiedensten Krankheiten zu untersuchen, sondern auch den Verlauf der einzelnen Krankheit in seiner Beziehung zum D. N. zu verfolgen. Leider war mein Kontakt mit der Klinik zu gering, um Derartiges auszuführen. Schon jetzt scheint mir aber die Wichtigkeit des D.N. für Nierenkrankheiten, Lungenkrankheiten, Gehirnerkrankungen, Darmkrankheiten und die Gynäkologie festzustehen. Was er bei Carcinom leistet, müssen erst weitere Untersuchungen lehren. Aber auch für die Röntgentherapie und nicht zuletzt für die Serologie scheint er mir von Bedeutung zu sein.

# Die Bedeutung der Quellung und Entquellung für einige Fragen der Biochemie*).

Von

**M. Richter-Quittner.**

(Aus der III. med. Abteilung und dem chem. Laboratorium des Kaiserin Elisabeth-Spitales in Wien.)

*(Eingegangen am 8. Juni 1921.)*

## Einleitung.

Unter Quellung versteht man die Aufnahme von Dispersionsmittel seitens eines Kolloides, ohne daß hierbei Änderungen des Aggregatzustandes statthaben. Das Lösungsmittel erscheint teilweise mechanisch, teils in allen Abstufungen in fester bis losester Bindung festgehalten. Bei starren Gelen haben wir es mit einer komplizierten Verkettung von Quellungsmittel und Kolloid zu tun — reine Adsorption und feste Lösung.

Hofmeister unterscheidet zwischen capillarer Quellung, Quellung durch Endosmose und molekularer oder echter Quellung. Für die Fragen, welche hier erörtert werden sollen, kommt wohl hauptsächlich die echte Quellung in Betracht. Ein quellungsfähiger Körper nimmt, in eine Flüssigkeit gebracht, eine endliche Menge Dispersionsmittel auf bis zu einer nicht zu übersteigenden Grenze, welche man als Quellungsmaximum bezeichnet. Unter Quellbarkeit versteht man nach Bechhold die maximale Aufnahmefähigkeit von Dispersionsmittel, unter Quellungsbreite die maximale Verschiebung der normalen Quellung nach oben und unten.

Erscheinungen, die für die Kolloide eigentümlich sind, beruhen, wie Ostwald, Weber, Bechhold u. a. m. betonen, auf Änderungen ihrer Hauptmerkmale: Dispersitätsgrad, Quellungszustand, Formart und räumliche Verteilung der Phasen. Derartige, für Kolloide charakteristische Kriterien hat W. Pauli Zustandsänderungen der Kolloide genannt. Nach dem heutigen Stand der Kolloidchemie muß solchen Zustandsänderungen für die Erfassung der Probleme der Biochemie, speziell der Blut-

*) Mitgeteilt in der Wiener biologischen Gesellschaft am 24. V. 1921; vgl. auch W. Falta, Über einige Probleme der Blutchemie. Dtsch. Kongreß f. inn. Med. Wiesbaden 1921.

chemie eine hervorragende Bedeutung zugesprochen werden. Das Blut ist ein kolloidales heterogenes System, bestehend aus Plasma und Blutkörperchen, die sich miteinander im physikalischen Gleichgewichtszustand befinden. M. H. Fischer faßt die Blutkörperchen auf als ein Gemisch der lyophilen Emulsionskolloide, Eiweiß, Lecithin und Cholesterin und dem lyophoben Suspensionskolloid Hämoglobin, das Plasma als Kolloidgemisch von Eiweiß, Cholesterin und Lecithin. Sowohl dem Plasma als auch den Blutkörperchen kommt nicht nur ein ganz bestimmter Dispersitätsgrad, sondern auch ein ganz bestimmter Quellungszustand zu. Den Quellungszustand der Kolloide kann man mit Hilfe von Konzentrationsbestimmungen ermitteln, wobei zu berücksichtigen ist, daß wir uns immer die innigen Wechselbeziehungen zwischen Plasma und Blutkörperchen vor Augen halten müssen, daher hier nur solche Methoden Anwendung finden können, die den Quellungszustand des Plasmas und der Blutkörperchen erfassen. Zur Bestimmung der Konzentrationsverhältnisse des Blutes stehen uns folgende Methoden zur Verfügung:

1. Zählung der Erythrocyten,
2. Bestimmung der Viscosität von Gesamtblut und Serum,
3. Bestimmung der Refraktion des Serums,
4. Bestimmung des Trockenrückstandes von Gesamtblut und Serum.

Hier handelt es sich um die Bestimmung des Quellungszustandes der Blutkörperchen. Die Bestimmung der Refraktion des Serums und die Zählung der roten Blutkörperchen kommt hier nicht in Betracht. Auch viscosimetrische Messungen würden hier zu keinem Ziel führen, da die Viscosität sich allein vom Quellungszustand, sondern noch von einer Reihe anderer Faktoren (Zahl und Größe der Blutkörperchen usw.) abhängig ist. Ich habe mich daher in dieser Arbeit ausschließlich auf die Bestimmung des Trockenrückstandes von Gesamtblut und Plasma resp. Serum beschränkt. Der Trockenrückstand der Blutkörperchen wurde aus dem Trockenrückstand von Gesamtblut und Plasma (resp. Serum) und dem mittels des Hämatokriten gefundenen Blutkörperchenvolums berechnet, wie sie in allen aus dem Laboratorium hervorgegangenen Arbeiten, die das Studium der chemischen Zusammensetzung der Blutkörperchen zum Gegenstand hatten, geübt wurden. Die neuesten Untersuchungen von Bechhold, Weber und Ostwald lassen es wahrscheinlich erscheinen, daß wir in der Kolloidfiltration ein ausgezeichnetes Mittel zur Erkennung kolloidaler Zustandsänderungen besitzen. Unter Kolloid- oder Ultrafiltration versteht Ostwald die Trennung von disperser Phase und Dispersionsmittel, welche durch Druck (hydrostatischer Druck, Über- oder Unterdruck an einer Membran erfolgt, die das Dispersionsmittel, nicht jedoch die disperse Phase hindurchläßt.

Bei der Zerlegung hydratisierender Emulsoide muß nach Ostwald scharf unterschieden werden zwischen der Trennung des „freien", d. h. nur osmotisch gebundenem Dispersionsmittel und einer Entquellung der dispersen Phase. Aus Verschiedenheiten des Permeirungsvermögens darf man aber nicht nur auf Zustandsänderungen der zu ultrafiltrierenden Sole schließen, sondern muß auch eventuelle Dispersitätsänderungen des Ultrafilters berücksichtigen.

Bei jeder Ultrafiltration wird eine Entquellung der dispersen Phase angestrebt, die nichts mit der eigentlichen Ultrafiltration zu tun hat. Es werden daher naturgemäß alle diejenigen Substanzen die Ultrafiltration eines Kolloides beschleunigen, die entquellend wirken und umgekehrt müssen Stoffe, die quellend wirken, die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit verzögern. Mit diesen Überlegungen stehen die Beobachtungen von A. Ellinger im Einklang, der zeigen konnte, daß die Diuretica der Puringruppe die Ultrafiltration von Serum-Ringerlösungen beschleunigen.

Es hat also den Anschein, daß wir in vergleichenden Messungen der Ultrafiltrationsgeschwindigkeit verschiedener Dispersoide eine Methode haben, die uns gestattet, einerseits, den Quellungszustand verschiedener kolloidaler Lösungen z. B. verschiedener Sera zu vergleichen, anderseits den Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf die Quellung resp. Entquellung von Kolloiden zu studieren.

## Methodik.

### 1. Die Bestimmung des Blutkörperchenvolumens.

Die Bestimmung des Blutkörperchenvolumens erfolgt mittels des Hämatokriten. Die Kautelen, auf die Ege vor kurzem hinwies, wurden von uns schon seit Jahren beobachtet. In Übereinstimmung mit Richard Ege möchte ich nun hier nochmals betonen, daß unserer Ansicht nach die Hämatokritmethode in der Hand eines geübten Untersuchers sehr gute Resultate gibt. Allerdings ist es notwendig, eine Reihe von Kautelen sorgfältigst zu beobachten. Man muß so lange zentrifugieren, bis das Blutkörperchenvolumen konstant bleibt und die Blutkörperchensäule lackfarben erscheint. Eine gute elektrische Zentrifuge mit 6000—10 000 Tourenzahl ist für derartige Bestimmungen unerläßlich.

Ich habe es ferner immer vermieden, das Blut direkt aus der Fingerbeere in die Hämatokritcapillare einzusaugen, sondern verwende ein paar Tropfen des mir zur Verfügung stehenden Gesamtblutes, das entweder mit Hirudin ungerinnbar gemacht oder durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert wurde. Auf diese Weise erhält man bei ein und derselben Person ein ganz konstantes Blutkörperchenvolumen, das kaum merkliche Schwankungen zeigt.

### 2. Die Bestimmung des Wassergehaltes.

Der Wassergehalt von Blut und Serum wurde mit Hilfe des Trockenrückstandes ermittelt.

Bei derartigen Bestimmungen muß die größte Sorgfalt bei der Blutentnahme angewendet werden. Schon Boeme konnte zeigen, daß äußere Einflüsse wie Muskelarbeit, selbst bloßes Heben des Armes, venöse Stauung oder psychische Erregung die Konzentration des Blutes weitgehend beeinflussen können. Es ist daher notwendig, daß die Blutentnahmen früh nüchtern, bei vollkommener Bettruhe erfolgt und daß das Blut ohne die geringste Stauung gewonnen wird. Ich verwendete für derartige Unter-

suchungen entweder venöses Blut, das ohne Stauung aus der Armvene entnommen wurde oder arterielles Blut*) oder arterialisiertes Capillarblut aus der Fingerbeere. Um die genügende Menge von Capillarblut aus der Fingerbeere ohne den geringsten Druck zu erhalten, ist es notwendig, daß die Pat. unmittelbar vor der Blutentnahme ein halbstündiges warmes Handbad nehmen. Mit Hilfe eines tiefen Einschnittes mittels der Lanzette gelingt es leicht, 3—4 ccm Blut ohne Druck zu erhalten. Dieses Blut wird mit Hirudin ungerinnbar gemacht und zwecks Plasmagewinnung sofort in einem verschlossenen Zentrifugenglas zentrifugiert. 1 ccm Blut, Plasma oder Serum wird in ein gewogenes kleines Wägegläschen mit eingeschliffenem Glasdeckel eingewogen und im evakuierten Exsiccator über konz. Schwefelsäure bis zur Konstanz getrocknet, was 1—2 Tage zu dauern pflegt. Es ist unbedingt notwendig, die Wägegläschen während der Wägung zu verschließen, da die Trockenrückstände sehr hygroskopisch sind. Die Trocknung des Analysenmaterials darf nicht bei 105° erfolgen, wie dies von den meisten Untersuchern vorgeschlagen wird, sondern bei gewöhnlicher Temperatur unter vermindertem Druck. Das schnelle Trocknen bei 105° bewirkt, daß die Eiweißkörper sich mit einer glasigen Membran überziehen, die eine weitere Austrocknung erschwert und unter Umständen ganz unmöglich machen kann.

Um mit der von mir angegebenen Methode gute Resultate zu erhalten, dürfen aber nicht mehr als 1 ccm Blut, Plasma oder Serum in Anwendung kommen, da bei zu langer Dauer des Eintrocknens die Gefahr besteht, daß bei der Fäulnis von organischem Material gasförmige Produkte entstehen, wodurch der erhaltene Trockenrückstand zu niedrig wäre. Da jeder Wägungsfehler mit 100 multipliziert wird, so müssen die Wägungen selbstverständlich mit größter Genauigkeit vorgenommen werden. Der erhaltene Trockenrückstand wird vom Gewicht von 100 ccm Blut, Plasma oder Serum abgezogen und diese Zahl als „Wasser" angesprochen. Der Fehler ist hierbei sehr gering, da die Blutgase nicht in wägbaren Mengen vorhanden sind. Die angegebenen Zahlen beziehen sich immer auf 100 ccm, nicht 100 g. Ich habe mit Absicht die Zahlen für Wasser und nicht für die Trockenrückstände angegeben, da dies von biologischen Gesichtspunkten aus viel übersichtlicher ist.

### 3. Die Ultrafiltrationsmethode.

Die Ultrafiltrationen wurden ausschließlich im Zsigmondy-Haenschen Apparat ausgeführt. Es wurden entweder die Mengen miteinander verglichen, die in gleichen Zeiten unter dem gleichen Druck aus der gleichen Menge des Dispersoides abfiltriert wurden, oder es wurde die Zeit genau beobachtet, die erforderlich ist, um eine quantitative Trennung von disperser Phase und Dispersionsmittel zu erreichen. Es ist selbstverständlich, daß bei einer derartig groben Versuchsanordnung nur sehr große Ausschläge

*) Die arteriellen Punktionen werden vom Assistenten Dr. Högler nach einer von ihm ausgearbeiteten Methode vorgenommen. Wien. Arch. f. inn. Med. 2, H. 3. 1921.

zu verwerten sind. Es ist aus pekuniären Gründen nicht möglich, für jeden Versuch ein neues Ultrafilter zu verwenden, und es ist selbstverständlich nicht ausgeschlossen, daß die Filter, die ja auch aus Kolloiden hergestellt sind, während einer Filtration so starke Veränderungen erleiden, die den nächsten Versuch modifizieren können. Ich will daher hier nur solche Versuche verwenden, die öfters wiederholt, immer wieder mit verschiedenen Filtern ausgeführt qualitativ die gleichen Resultate ergaben.

## Der Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf die Quellung und Entquellung von Dispersoiden.

Der Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf die Quellung resp. Entquellung von Kolloiden ist schon oft Gegenstand der Untersuchung gewesen. Für den Nachweis der Quellung sind vornehmlich 3 Methoden in Gebrauch.

1. Die Bestimmung der Volumsvergrößerung,
2. Bestimmung der Gewichtszunahme,
3. viscosimetrische Messungen.

Diese Methoden wurden in den berühmten Quellungsversuchen von Hofmeister und M. H. Fischer und Pauli verwendet.

Bei der Bestimmung der Volumsvergrößerung wird das zu untersuchende Kolloid in schmale Reagenzgläser eingefüllt und beobachtet, wie stark es unter dem Einfluß verschiedener Zusätze in die Höhe steigt. Die Versuche von Hofmeister, welche an Gelatine ausgeführt wurden, zeigten, daß die Quellung der Gelatine von Salzen verschieden stark beeinflußt wird und zwar ergeben sich zwei Reihen von Salzen solche, welche die Quellung begünstigen und solche, welche sie hemmen. Nach Hofmeister wirken quellend: $OH > H > CNS > J = Br > NO_3 > ClO_3 > Cl$. Entquellend: $SO_4 >$ Tartrat $>$ Citrat $>$ Acetat.

Alle Untersucher stimmen darin überein, daß die Kationen nahezu ohne Einfluß sind und die verschiedene Wirkung der zugesetzten Salze nahezu ausschließlich dem Einfluß der Anionen zugeschrieben werden muß. Die interessanten Untersuchungen von Pauli und M. H. Fischer stimmen mit den Befunden Hofmeisters überein.

Die bekannten Quellungsstudien von M. H. Fischer und seinen Mitarbeitern ergaben die gleichen Resultate für die Quellungsbeeinflussung der von ihm untersuchten Kolloide. So quillt z. B. Fibrin in Säuren und Laugen viel stärker als in destilliertem

Wasser. Diese Säure oder Laugenquellung wird durch Zugabe irgendeines Salzes vermindert. M. H. Fischer stellt für die Wirkung der Salze folgende Reihe auf:

Anionen: Citrat < Tartrat < Phosphat < Sulfat < Acetat < J < CNS < $NO_3$ < Br < Cl.

Kationen: Fe < Cu < Sr < Ba < Ca < Mg < $NH_4$ < Na < K.

Dasjenige Ion, das den Quellungsgrad, den Fibrin in einer Säure oder Lauge aufweist, am meisten herabzusetzen vermag, steht an erster Stelle. Nichtelektrolyte sind nach den Versuchen von Hofmeister, Pauli und M. H. Fischer ohne Einfluß.

Von dem Gedanken ausgehend, daß alle Stoffe, die die Quellung von Dispersoiden erhöhen, die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit verlangsamen müssen und umgekehrt Stoffe, die entquellend wirken, die Ultrafiltration beschleunigen werden, habe ich versucht, mit Hilfe der Ultrafiltrationsmethode im Zsigmondy-Haenschen Apparat den Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf dem Quellungszustand von Dispersoiden zu untersuchen. Um zu erkennen, welchen Einfluß die verschiedenen Zusätze auf das Ultrafilter ausüben, habe ich gleiche Mengen verschiedener äquimolekularer wässeriger Lösungen unter dem gleichen Druck abfiltriert. Als Vergleich diente die gleiche Menge von destilliertem Wasser. Es zeigte sich in sehr zahlreichen Versuchen, daß alle Elektrolytlösungen etwas langsamer filtrieren als destilliertes Wasser, alle Lösungen von Nichtelektrolyten hingegen etwas schneller als destilliertes Wasser. Der Einfluß dieser Zusätze ist aber, wie Versuche der Tabelle I zeigen, im großen und ganzen sehr klein. Eine deutliche Hemmung zeigen nur Säuren und Laugen, die auf das Filter quellend wirken. Ich habe ferner Ultrafilter 24 Stunden in Elektrolyt- und Nichtelektrolytlösungen eingeweicht und durch solche vorbehandelte Filter Ochsenserum filtriert. Die Versuche ergeben das gleiche Resultat: durch Einfluß von Säuren und Laugen quillt das Filter, so daß die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit verlangsamt wird. Die Lösungen von Zucker, Harnstoff und Salzen sind ohne wesentlichen Einfluß.

Versuche an Ochsenserum, menschlichem Blut und menschlichen Blutkörperchen und menschlichem Ascites ergaben folgendes Resultat: die Nichtelektrolyten, Zucker und Harnstoff

Fortsetzung auf S. 285.

## Tabelle I.

### Ultrafiltrationsversuche von wässerigen Lösungen von Elektrolyten und Nichtelektrolyten bei äquimolekularen Lösungen.

| Bezeichnung | Menge | Druck mm | Dauer Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| $H_2O$ | 100 ccm | 20 | 1 | — |
| NaOH | 10 ccm 1,31% NaOH | 20 | 1³/₄ | Hemmung |
| KOH | 10 ccm 0,936% KOH | 20 | 1¹/₂ | " |
| HCl | 100 ccm 1,29% HCl | 20 | 2 | " |
| $HNO_3$ | 100 ccm 0,7% $HNO_3$ | 20 | 1¹/₂ | " |
| $H_2SO_4$ | 100 ccm 0,48% $H_2SO_4$ | 20 | 2 | " |
| NaCl | 100 ccm 0,9% NaCl | 20 | 1¹/₂ | " |
| $NH_4Cl$ | 100 ccm 0,9% $NH_4Cl$ | 20 | 1¹/₂ | " |
| KCl | 100 ccm 0,7% KCl | 20 | 1¹/₂ | " |
| KJ | 100 ccm 0,45% KI | 20 | 1³/₄ | " |
| $MgCl_2$ | 100 ccm 0,87% $MgCl_2$ | 20 | 1³/₄ | " |
| $FeCl_3$ | 100 ccm 0,4% $FeCl_3$ | 20 | 2 | " |
| Traubenzuck. | 100 ccm 1% Traubenzucker | 20 | 1 | indifferent |
| | 100 ccm 0,5% Traubenzucker | 20 | 1 | |
| | 100 ccm 0,1% Traubenzucker | 20 | 1 | |
| Harnstoff | 100 ccm 0,87% Harnstoff | 20 | 1 | indifferent |

## Tabelle II.

### Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz äquimolekularen Salzlösungen.

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 20 | 40 ccm $H_2O$ | 12 | 3¹/₂ | — |
| | | | 3³/₄ | |
| 20 | 40 ccm 0,70% KCl | 12 | 2³/₄ | Förderung |
| 20 | 40 ccm 90% NaCl | 12 | 4³/₄ | Hemmung |
| 20 | 40 ccm 0,62% $NaHCO_3$ | 12 | 6 | " |
| 20 | 40 ccm 0,50% $Na_2CO_3$ | 12 | 5 | " |
| 20 | 40 ccm 0,38% $K_2CO_3$ | 12 | 3 | |
| 20 | 40 ccm 0,55% $MgCl_2$ | 12 | 5³/₄ | " |
| 20 | | 12 | 4¹/₂ | " |

## Tabelle III.

**Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz äquimolekularen Lösungen von Elektrolyten und Nichtelektrolyten.**

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 20 | 40 ccm $H_2O$ | 12 | $3^1/_2$ | |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-NaOH | 12 | 15 | Hemmung |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-KOH | 12 | 6 | " |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-NaCl | 12 | 5 | " |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-KCl | 12 | 3 | Beschleunigung |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2 + 6\,H_2O$ | 12 | 4 | Hemmung |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-HgCl | 12 | $3^1/_2$<br>4 | Ohne Einfluß |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-$HgCl_2$ | 12 | 3 | Beschleunigung |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$ | 12 | $3^1/_2$ | " |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-AgCl | 12 | $3^3/_4$ | " |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-Traubenzuckerlösung | 12 | 2 | " |
| 20 | 40 ccm $^n/_{10}$-Harnstoff | 12 | $2^1/_2$ | " |

## Tabelle IV.

**Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz von äquimolekularen Lösungen von Elektrolyten und Nichtelektrolyten.**

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Konzentration | Druck mm | Dauer Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 20 | $H_2O$ | 40 ccm $H_2O$ | 12 | $3^1/_2$<br>$3^3/_4$ | |
| 20 | NaCl | 40 ccm $^n/_{10}$-NaCl | 12 | 5 | Verzögerung |
| 20 | $NaHCO_3$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$NaHCO_3$ | 12 | 6 | " |
| 20 | $Na_2CO_3$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$Na_2CO_3$ | 12 | 6 | " |
| 20 | $NaHSO_4$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$NaHSO_4$ | 12 | $3^1/_2$<br>3<br>$3^3/_4$ | Ohne Einfluß |
| 20 | $Na_2SO_4$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$Na_2SO_4$ | 12 | 3<br>$3^1/_2$ | " |
| 20 | NaJ | 40 ccm $^n/_{10}$-NaJ | 12 | 4<br>$4^1/_2$ | Verzögerung |
| 20 | NaBr | 40 ccm $^n/_{10}$-NaBr | 12 | 4<br>$4^1/_2$ | " |
| 20 | Na-Acetat | 40 ccm $^n/_{10}$-Na-Acetat | 12 | 3<br>3<br>$3^1/_2$ | Ohne Einfluß |

Tabelle IV (Fortsetzung).

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Konzentration | Druck mm | Dauer Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|---|
| 20 | KCl | 40 ccm $^n/_{10}$-KCl | 12 | $2\frac{1}{2}$<br>$2\frac{3}{4}$<br>$2\frac{1}{2}$ | Beschleunigung |
| 20 | $KHCO_3$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$KHCO_3$ | 12 | $3\frac{1}{2}$<br>$3\frac{1}{2}$ | Verzögerung |
| 20 | $K_2CO_3$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$K_2CO_3$ | 12 | 3<br>$3\frac{3}{4}$ | Ohne Einfluß |
| 20 | $K_2SO_4$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$K_2SO_4$ | 12 | 2<br>$1\frac{3}{4}$ | Beschleunigung |
| 20 | KJ | 40 ccm $^n/_{10}$-KJ | 12 | $2\frac{1}{2}$<br>$2\frac{3}{4}$ | „ |
| 20 | KBr | 40 ccm $^n/_{10}$-KBr | 12 | $2\frac{3}{4}$ | „ |
| 20 | KCNS | 40 ccm $^n/_{10}$-KCNS | 12 | 2 | „ |
| 20 | K-Acetat | 40 ccm $^n/_{10}$-K-Acetat | 12 | 2 | „ |
| 20 | Monokaliumtatrat | 40 ccm $^n/_{10}$-Monokaliumtatrat | 12 | 2 | „ |
| 20 | Monokaliumzitrat | 40 ccm $^n/_{10}$-Monokaliumzitrat | 12 | 2 | „ |
| 20 | $MgCl_2$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$MgCl_2$ | 12 | 7 | Verzögerung |
| 20 | $CaCl_2$ | 40 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ | 12 | $7\frac{1}{2}$<br>$7\frac{3}{4}$ | „ |
| 20 | Harnstoff | 40 ccm $^n/_{10}$-Harnstoff | 12 | 2 | Beschleunigung |
| 20 | Rohzucker | 40 ccm $^n/_{10}$-Rohzucker | 12 | $1\frac{1}{2}$<br>$1\frac{3}{4}$ | „ |
| 20 | Traubenzucker | 40 ccm $^n/_{10}$-Traubenzucker | 12 | 1<br>$1\frac{1}{2}$ | „ |

Tabelle V.

Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz äquimolekularen Lösung von Elektrolyten und Nichtelektrolyten.

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10 | 10 ccm $H_2O$ | 16 | 2<br>$2\frac{1}{4}$ | |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-LiCl | 16 | 3 | Hemmung |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$Li_2CO_3$ | 16 | 3 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-NaCl | 16 | 3 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$NaHCO_3$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$Na_2CO_3$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$Na_2SO_4$ | 16 | 2<br>$2\frac{1}{2}$ | Ohne Einfluß |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$NaNO_3$ | 16 | $2\frac{1}{2}$ | „ |

### Tabelle V (Fortsetzung).

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Std. | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-N-citrat | 16 | $2^1/_2$ | Ohne Einfluß |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-Monokaliumtartrat | 16 | $2^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-KCl | 16 | $1^1/_2$ | Förderung |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$NH_4Cl$ | 16 | 3 | Hemmung |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$MgCl_2$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$BaCl_2$ | 16 | $4^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$ZnCl_2$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$MnCl_2$ | 16 | 4 | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$FeSO_4$ | 16 | 2 | Beschleunigung |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$Fe_2(SO_4)_3$ | 16 | $1^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$FeCl_3$ | 16 | 2<br>$1^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$HgCl_2$ | 16 | $1^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-AgCl | 16 | $1^1/_2$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-$AgNO_3$ | 16 | $1^3/_4$ | „ |
| 10 | 10 ccm $^n/_{10}$-Uranylacetat | 16 | 1 | „ |

### Tabelle VI.

Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz von Salzlösungen. Prüfung auf Kationen. Immer die gleiche Menge Cl, und zwar 0,545% Cl.

| Menge des Serums ccm | Salz | Menge der Salzlösung | Druck ccm | Dauer Std. | |
|---|---|---|---|---|---|
| 10 | $H_2O$ | 30 ccm $H_2O$ | 20 | 7<br>$7^1/_2$ | |
| 10 | $NH_4Cl$ | 30 ccm 0,82% $NH_4Cl$ | 20 | 5 | Förderung |
| 10 | NaCl | 30 ccm 0,9% NaCl | 20 | 8 | Hemmung |
| 10 | KCl | 30 ccm 1,13% KCl | 20 | 4 | Förderung |
| 10 | SiCl | 30 ccm 0,66% SiCl | 20 | 5 | Hemmung |
| 10 | $CaCl_2$ | 30 ccm 1,7% $CaCl_2$ | 20 | $8^1/_2$ | „ |
| 10 | $CaCl_2 + 6H_2O$ | 30 ccm 3,35% $CaCl_2 + 6H_2O$ | 20 | 10 | „ |
| 10 | $MgCl_2$ | 30 ccm 3,12% $MgCl_2$ | 20 | 9 | „ |
| 10 | $FeCl_3$ | 30 ccm 2,49% $FeCl_3$ | 20 | 4 | Förderung |
| 10 | HgCl | 30 ccm 3,59% HgCl | 20 | 2 | „ |
| 10 | $HgCl_2$ | 30 ccm 4,1% $HgCl_2$ | 20 | $1^1/_2$ | Förderung filtriert nicht klar |

Tabelle VII.

Ultrafiltration von Ochsenserum. Zusatz verschiedener Salze. Prüfung auf Anionen. Immer die gleiche Menge Na, und zwar 0,354 g Na%.

| Menge des Serums ccm | Salz | Menge der Salzlösung | Druck mm | Dauer Stunden |
|---|---|---|---|---|
| 10 | $H_2O$ | 30 ccm $H_2O$ | 12 | $3^1/_2$ $3^3/_4$ |
| 10 | NaCl | 30 ccm 0,90% NaCl | 12 | 5 |
| 10 | NaBr | 30 ccm 1,6% NaBr | 12 | 6 |
| 10 | NaJ | 30 ccm 2,3% NaJ | 12 | 7 |
| 10 | $NaNO_2$ | 30 ccm 1,02% $NaNO_2$ | 12 | 5 |
| 10 | $NaHCO_3$ | 30 ccm 1,23% $NaHCO_3$ | 12 | 8 |
| 10 | $Na_2CO_3$ | 30 ccm 0,83% $Na_2CO_3$ | 12 | 9 |
| 10 | $NaJO_3$ | 30 ccm 3,14% $NaJO_3$ | 12 | 7 |
| 10 | $Na_2HPO_4$ | 30 ccm 2,75% $Na_2HPO_4$ | 12 | 6 |
| 10 | $NaH_2PO_4$ | 30 ccm 1,86% $NaH_2PO_4$ | 12 | 5 |
| 10 | $Na_2S_2O_3$ | 30 ccm 3,82% $Na_2S_2O_3$ | 12 | 6 |
| 10 | $Na_2SO_4$ sicum | 30 ccm 1,09% $Na_2SO_4$ sicum | 12 | $3^3/_4$ |
| 10 | $Na_2SO_4 + 10 H_2O$ | | 12 | 3 |
| 10 | $NaHSO_4$ | 30 ccm eines 1.87% $NaHSO_4$ | 12 | 4 |

Tabelle VIII.

Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz von Säuren und Laugen.

| Menge des Serums ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|
| 10 | $H_2O$ | 12 | 3 | |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-NaOH | 12 | 14 | Starke Hemmung |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-KOH | 12 | 5 | Hemmung |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$Ca(OH)_2$ | 12 | 17 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$Ba(OH)_2$ | 12 | 16 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-HCl | 12 | 7 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$HNO_3$ | 12 | 6 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$H_2SO_4$ | 12 | 5 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$CCl_3COOH$ | 12 | 5 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-$CH_3COOH$ | 12 | 6 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-Weinsäure | 12 | 5 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-Citronensäure | 12 | 9 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-HI | 12 | 12 | " |

## Tabelle IX.

### Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz von Zuckerlösungen.

| Menge des Serums ccm | Zucker | Konzentration der Zuckerlösung | Druck mm | Dauer Stunden |
|---|---|---|---|---|
| 10 | 0 | 30 ccm $H_2O$ | 12 | 3<br>3¹/₄ |
| 10 | Rohrzucker | 30 ccm 1% Rohrzucker | 12 | 2 |
| 10 | „ | 30 ccm 3% „ | 12 | 1³/₄ |
| 10 | Glukose | 30 ccm 1% Glukose | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | „ | 30 ccm 3% „ | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | Larulose | 30 ccm 1% Larulose | 12 | 1³/₄ |

## Tabelle X.

### Ultrafiltration von Ascites unter Zusatz von verschieden starken NaCl-Lösungen und KCl-Lösungen.

| Menge des Ascites ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden |
|---|---|---|---|
| 10 | 10 ccm $H_2O$ | 12 | 2 |
| 10 | 10 ccm n-NaCl | 12 | 4 |
| 10 | 10 ccm n/2-NaCl | 12 | 3³/₄ |
| 10 | 10 ccm n/5-NaCl | 12 | 4 |
| 10 | 10 ccm n/10-NaCl | 12 | 3 |
| 10 | 10 ccm n/100-NaCl | 12 | 3 |
| 10 | 10 ccm n-KCl | 12 | 2 |
| 10 | 10 ccm n/2-KCl | 12 | 2 |
| 10 | 10 ccm n/5 KCl | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | 10 ccm n/10 KCl | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | 10 ccm n/100 KCl | 12 | 1¹/₂ |

## Tabelle XI.

### Ultrafiltration von Ochsenserum unter Zusatz von Harnstoff.

| Menge des Serums ccm | Konzentration d. Harnstofflösung | Druck mm | Dauer Stunden |
|---|---|---|---|
| 10 | 30 ccm $H_2O$ | 12 | 3 |
| 10 | 30 ccm 0,87% | 12 | 1³/₄ |
| 10 | 30 ccm 0,1% | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | 30 ccm 0,5% | 12 | 1¹/₂ |
| 10 | 30 ccm 1% | 12 | 1 |
| 10 | 30 ccm 3% | 12 | 1³/₄ |
| 10 | 30 ccm 5% | 12 | 2 |

Tabelle XII.

Ultrafiltration von defibriniertem Gesamtblut unter Zusatz äquimolekularen Lösungen.

| Menge des Blutes ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|
| 5 | 20 ccm $H_2O$ | 12 | 5 | |
| | | | $5^1/_2$ | |
| 5 | 20 ccm $^n/_{10}$-KCl | 12 | 4 | Beschleunigung |
| 5 | 20 ccm $^n/_{10}$-$KCH_3COO$ | 12 | $3^1/_2$ | " |
| | | | $3^3/_4$ | |
| 5 | 20 ccm $^n/_{10}$-NaCl | 12 | 6 | Ohne Einfluß |
| | | | $5^3/_4$ | |
| 5 | 20 ccm $^n/_{10}$-$NaHCO_3$ | 12 | 8 | Verzögerung |
| | | | 9 | |
| 5 | 20 ccm $^n/_{10}$-Traubenzuckerlösung | 12 | $3^3/_4$ | Beschleunigung |

Tabelle XIII.

Ultrafiltration von in Wasser aufgeschwemmten menschlichen Blutkörperchen unter Zusatz äquimolekularen Lösungen.

| Menge d. Blutkörperchenbreies ccm | Zusatz | Druck mm | Dauer Stunden | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|
| 10 | 30 ccm $H_2O$ | 12 | 4 | |
| | | | 4 | |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-NaOH | 12 | 26 | Verzögerung |
| | | | 29 | |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$KOH | 12 | 14 | " |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-NaCl | 12 | 5 | " |
| | | | 5 | |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-KCl | 12 | 3 | Beschleunigung |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-Traubenzuckerlösung | 12 | 3 | " |
| | | 12 | | |
| 10 | 30 ccm $^n/_{10}$-Harnstofflösung | 12 | $3^1/_4$ | " |
| | | | $3^1/_4$ | |

beschleunigen in allen Konzentrationen die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit von Ochsenserum oder Ascites, ebenso verhalten sich alle untersuchten Kalisalze und Schwermetallsalze. Alle übrigen untersuchten Salze, insbesondere alle Laugen und Säuren, hemmen die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit sehr deutlich. Siehe Versuche der Tabelle II bis XIII. Um den Einfluß der verschiedenen Ionenwirkungen zu studieren, wurden z. B. in Tabelle Nr. 6 Salzlösungen zugesetzt, die immer die gleiche Menge Chlor aber wechselnde Mengen von Kationen enthielten. Alle Versuche zeigen deutlich, daß der Einfluß der Kationen viel stärker als der der Anionen zum Ausdruck kommt. Die quellungs-

beeinflussende Wirkung der Salze setzt sich additiv zusammen aus der Wirkung der Kationen und der der Anionen, doch ist die Wirkung der Anionen anscheinend geringer. Es ergibt sich nun für die Wirkung der Kationen folgende Reihe:

entquellend: $K > Hg > Te > Ag > Cu > U$,

quellend: $Ca > Ba > Sr > Mg > Na > Mn > Si > NH_4$.

Für die Wirkung der Anionen

entquellend: $SO_4 >$ Citrat $>$ Tartral $>$ Acetat,

quellend: $OH > H > CNS > Br > J > Cl$.

Dasjenige Ion, das den stärksten Einfluß ausübt, steht an erster Stelle.

Die untersuchten Nichtelektrolyte wirken entquellend, und zwar ist diese Wirkung ganz besonders deutlich und übertrifft diejenige der Elektrolyten.

Alle Schwermetallsalze, die ja bekanntlich eiweißfällend wirken, beschleunigen also die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit. Dies stimmt mit der Annahme *Paulis* überein, daß der Übergang des Gels in das Sol einem Quellungsvorgang, der Übergang des Sols in das Gel einem Entquellungsvorgang entspricht.

Die von mir gefundenen Quellungsreihen unterscheiden sich von denen anderer Untersucher in einigen Punkten, was leicht verständlich ist, da ich nicht nur mit einer prinzipiell anderen Methode (Ultrafiltration an Stelle von viscosimetrischen Messungen, Bestimmung der Volumsvergrößerung und Gewichtsvermehrung), sondern auch die Quellungsänderungen anderer Dispersoide untersucht habe. Meine Untersuchungen erstrecken sich auf Serum und Ascitesflüssigkeit, also Albumin und Globulinlösungen.

Nur in einigen wenigen Versuchen, die ich in Tabelle XII und XIII zusammengestellt habe, kam Gesamtblut und Blutkörperchen, also das Suspensonskolloid Hämoglobin zur Verwendung. *Hofmeister*, *M. H. Fischer* und *Pauli* hingegen haben sich mit dem Studium von Gelatine, Glutin und Fibrin befaßt. Auch *Pauli* weist auf das verschiedene Verhalten von Albumin und Glutin hin. Versuche *Paulis* ergaben, daß Neutralsalze in der Kombination mit *Albumin* eine *Erniedrigung* der inneren Reibung zeigen, während Neutralsalze beim *Glutin* ausnahmslos reibungs*erhöhend* wirken.

Meine Untersuchungen ergaben folgendes:

1. Während die anderen Untersucher finden, daß die Nicht-

elektrolyte ohne Einfluß sind, ergeben meine Untersuchungen gerade, daß der Einfluß von Zucker und Harnstoff besonders deutlich ist.

2. Während die anderen Untersucher den Anionen allein eine größere Bedeutung zuschreiben, lassen meine Versuche erkennen, daß der Einfluß der Kationen mindestens ebenso groß, wenn nicht großer als der der Anionen ist.

3. Im Gegensatz zu den Untersuchungen anderer Autoren kann ich einen deutlichen Antagonismus der Natron und Kalisalzwirkung beobachten: Alle Natronsalze wirken quellend, alle Kalisalze wirken entquellend.

### Der Einfluß der Elektrolyten und Nichtelektrolyten auf den Quellungszustand der Blutkörperchen.

Jedem Organ kommt nicht nur ein ganz bestimmter Wassergehalt, sondern auch ein ganz bestimmter Quellungszustand zu, der für das Leben des betreffenden Organs oder der betreffenden Zelle von der größten Bedeutung ist.

Für das normale Funktionieren der Organe ist ein normaler, jedem Organismus und jedem Organ eigener Wassergehalt unerläßlich. Zweifellos kommt jedem Organkolloid als solchem eine bestimmte Quellbarkeit und eine bestimmte Quellungsbreite zu. Alle Forscher stimmen darin überein, daß die Quellungsbreite der Blutkörperchen und des Plasmas unter physiologischen Bedingungen nicht sehr groß ist, so daß es vollkommen verständlich ist. daß jeder Flüssigkeitsüberschuß zum Teil durch die Nieren zum Teil in die Gewebe ausgeschieden werden muß. Meine eigenen Untersuchungen, welche in Tabelle XIV zusammengestellt sind, zeigen, daß der Wassergehalt des Plasmas und der Blutkörperchen unter physiologischen Bedingungen außerordentlich konstant ist. Es scheint noch überdies ein fein regulierter Mechanismus den Wassergehalt der Blutkörperchen konstant zu erhalten. Der Wassergehalt der Blutkörperchen beträgt unter normalen Verhältnissen im Durchschnitt 66 g in 100 ccm Blutkörperchen. Die größten Unterschiede sind 65,9 und 67,0.

Venöses und arterielles Blut haben anscheinend den gleichen Quellungszustand, doch ist die venöse Stauung, wie von Dr. Aiello in unserem Laboratorium durchgeführte Versuche zeigen werden, von großem Einfluß auf die Konzentration des Blutes. Venöse

Tabelle XIV.

**Wassergehalt der Blutkörperchen unter physiol. Verhältnissen. Blutentnahme ohne Stauung.**

| Datum | Name | Diagnose | Blutkörper-Vol. | $H_2O$ | | | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Gesamtblut | Plasma (Serum) | Blutkörperchen | |
| 7. I. 1920. | Katze | — | 42.3 | 75,48 | 83,15 | 65,03 | Arterielles Blut |
| 14. VII. 1920. | Katze | — | 42.2 | 76,43 | 84.00 | 65,90 | Venöses Blut |
| 23. VI. 1920. | Hund | — | 43.2 | 78,52 | 88,45 | 65,32 | Arterielles Blut |
| 30. VI. 1920. | Hund | — | 43,1 | 80,05 | 91,45 | 65,18 | Venöses Blut |
| 6. IX. 1920. | Hund | — | 45,3 | 75,87 | 83,18 | 66,95 | Arterielles Blut |
| 17. VII. 1920. | Kaninch. | — | 44,0 | 80,37 | 91,07 | 66,06 | Venöses Blut |
| 21. IX. 1920. | Gans | — | 44,3 | 75,67 | 82,57 | 66,98 | Arterielles und venöses Blut |
| 28. VI. 1920. | R. | Gonorrhöe | 43,2 | 79,83 | 90,15 | 66,35 | Venöses Blut |
| 3. VII. 1920. | Franz Frant. | Normal | 40,3 | 82,02 | 90,42 | 66,30 | Venöses Blut |
| 13. VII. 1920. | Dr. L. | Normal | 45,0 | 80,38 | 91,61 | 66,66 | Venöses Blut |
| 16. VII. 1920. | Franz R. | Normal | 45,0 | 80,38 | 91,61 | 66,66 | Arterielles Blut |
| 28. IX. 1920. | Fe. | Normal | 46,2 | 78,08 | (89,20) | 65,05 | Venöses Blut |
| 20. II. 1921. | Dr. M. R. | Normal | 43,4 | 80,00 | 90,62 | 66,15 | Arterielles Blut aus der Fingerbeere |
| 7. IV. | St. | Ischias | 43,4 | 80,39 | 90,54 | 66,87 | Arterielles Blut aus der Fingerbeere |
| 12. III. | Franz A. | Normal | 44,2 | 79,58 | 90,44 | 65,90 | Arterielles Blut |
| 5. III. | Leop. Schr. | Normal | 39.4 | 83,55 | 93,58 | 66,90 | Arterielles Blut aus der Fingerbeere |

Stauung führt in der Mehrzahl der Fälle zu einer Entquellung der Blutkörperchen.

Perorale und intravenöse Zufuhr von Elektrolyten und Nichtelektrolyten beeinflußt den Quellenzustand der Blutkörperchen hingegen sehr deutlich. Die Versuche der Tabelle XV zeigen, daß diejenigen Substanzen, welche die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit beschleunigen, also im Ultrafiltrationsapparat entquellend wirken, auch die Blutkörperchen zur Entquellung bringen und umgekehrt, daß alle diejenigen Substanzen, welche die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit

hemmen, auch quellend auf die Blutkörperchen wirken. Wir haben Versuche mit Harnstoff, Rohrzucker, Traubenzucker, Kaliumacetat, Natriumchlorid, Natriumcarbonicum, Calcium lacticum und Magnesiumchlorid angestellt.

In vollkommener Übereinstimmung mit den Ultrafiltrationsversuchen zeigte es sich, daß Harnstoff, Zucker und Kalisalze entquellend, Na-, Ca- und Mg-Salze quellend wirken. Ich möchte hier bemerken, daß sich meine Untersuchungen ausschließlich auf normale Individuen beschränken, unter pathologischen Bedingungen kann dies vielleicht anders sein. Es wird allgemein angenommen, daß alle peroral zugeführten Stoffe in isotonischer Konzentration in die Blutbahn gelangen.

Nach der Anschauung von Hamburger, Hedin usw. sollten daher alle diese Stoffe ohne Einfluß auf das Volumen der Blutkörperchen sein. Wir sehen aber, daß Zucker, Harnstoff und Kalisalze entquellend, Natron, Magnesium und Calciumsalze quellend wirken. Dies erscheint uns nach Beobachtungen, welche in der Literatur vorliegen, nicht unverständlich. Richet und Moutard Martin haben als erste auf den diuretischen Effekt von Glykoseinjektionen hingewiesen. Lamy und André Mayer beobachteten, daß intravenöse Zufuhr von Glucose eine Blutverdünnung zur Folge haben und vertreten die Ansicht, daß die Verwässerung des Blutes und die dadurch bedingte Diurese auf einer Entwässerung der Zellen des Organismus beruhe. H. H. Meyer weist in seinem Lehrbuch der Pharmakologie darauf hin, daß Traubenzucker und Milchzucker eine Entwässerung und Aufsaugen von Ödemen bewirkt. In neuester Zeit haben sich Bürger und Hagemann, Lipschitz und Ellinger mit diesen Fragen beschäftigt. Lipschitz fand als unmittelbare Folge der Zuckerinjektion eine sehr starke Blutverdünnung, hervorgerufen durch einen eiweiß- und salzarmen Wasserstrom aus den Geweben. Ebenso konstatieren Bürger und Hagemann bei sämtlichen untersuchten Normalfällen eine Abnahme des Blutkörperchenvolumens und daher eine Zunahme des Plasmavolumens als Folge der Zuckerinjektion. Bürger und Hagemann schlagen Zuckerinjektionen zwecks therapeutischer Entwässerung von Ödemen vor. Nach Ansicht dieser Autoren kann man eine Wasserentziehung aus hydropischen Geweben auf dem Wege einer vorübergehenden Hydrämie dadurch erreichen, daß man den osmotischen Druck vorübergehend durch Stoffe erhöht, welche infolge ihrer Molekulargröße die Capillarwände nur langsam durchdringen und daher einen Strom von Gewebsflüssigkeit ins Blut hervorrufen. Ellinger weist daraufhin, daß beim Flüssigkeitsaustausch zwischen Blut und Gewebe der Quellungsdruck der gelösten Eiweißkörper von Blut und Gewebe eine ausschlaggebende Rolle spielt. Er konnte im Bechholdschen Ultrafiltrationsapparat zeigen, daß die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit einer Serum-Ringerlösung durch die Diuretica der Puringruppe beschleunigt wird. Er vertritt daher die Ansicht, daß alle Diuretica im gleichen Sinne den Quellungsdruck der Eiweißsole herabsetzen.

## Tabelle XV.

**Quellung resp. Entquellung der Blutkörperchen unter dem Einfluß von Elektrolyten und Nichtelektrolyten beim Gesunden.**

| Datum | Bemerkungen | Vorher | | | | Nachher | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Blutkörp.-Volumen | $H_2O$ | | | Blutkörp.-Volumen | $H_2O$ | | |
| | | | Blut | Plasma | Blutk. | | Blut | Plasma | Blutk. |
| 1. VI. 1920. 3 kg schwerer Hund | 1¾ Std. nach **15 g NaCl per os** | 45.3 | 83.20 | 91.02 | 74.20 | 49,5 | 87,30 | 93,45 | **80,00** |
| 15. VI. 20. 4¾ kg schwerer Hund | 1 Std. nach **20 g NaCl** per os | 37.3 | 79,12 | 91,09 | 59,48 | 38,5 | 83,50 | 93.31 | **65,90** |
| 15. VI. 1920. Dr. F. N. M. Normal | 1 Std. nach **44 g NaCl** + 150 ccm $H_2O$ | 46.8 | 79.12 | 90.35 | 66,36 | 48,35 | 83,62 | 92,34 | **76,20** |
| 5. III. 1921. L. Schr. | 1 Std. nach intravenöser Injektion von 30 ccm einer 10% **NaCl** | 39.4 | 83.55 | 93.57 | 66.90 | 37,5 | 86,72 | 94,57 | **76,02** |
| 28. V. 1920. 3½ kg schwerer Hund | 1 Std. nach **4×10 g $NaHCO_3$** | 45,3 | 76.39 | 90.43 | 58,68 | 47,8 | 84,15 | 92,59 | **74,70** |
| 23. VI. 1920. | Dr. F. N. M., 31 J. alt, Normal, **10 g Nabic** | 45,0 | 79.48 | — | — | 47,0 | 82,14 | 92,64 | **70,0** |
| 4. V. 5. V. | M. R., Normal, 2 Std. nach **80 g $NaHCO_3$** | 43,0 | 80.46 | 90,36 | 67,37 | 45,7 | 83,40 | 91,00 | **74,87** |
| 3. u. 7. III. 1921. M. R. 277. | **4×5 g Ca lacticum** 15 g Calcium lacticum | 43,0 | 80,74 | — | — | 46,0 | 83,47 | 91,58 | **78,90** |
| 23. VI. 20. 3½ kg schwerer Hund | 32 Std. nach **40 g Ca lacticum** | 43,3 | 78,52 | 85,45 | 65,92 | 44,6 | 80,12 | 89,43 | **86,26** |
| 20. II. 1921. | M. R., Normal, 27 J., 1 Std. n. **6,2 g $MgCl_2$** | 43,4 | 80,00 | 90,62 | 66,15 | 43,0 | 85,82 | 91,39 | **78,30** |
| 25. IV. 1921. | M. R., Normal, 2 Std. nach **20 g K-acetat** + 100 ccm Wasser | 43,0 | 79,62 | 90,10 | 65,74 | 40,0 | 80,79 | 91,99 | **64,12** |
| 15. III. 1921. | Stoklasa, Ischias, ¾ Std. nach **6 g $KCH_3COO$** + 50 ccm $H_2O$ mittels Schlundsonde | 43,1 | 80,0 | 90,26 | 66,07 | 40,0 | 79,06 | 92,55 | **59,27** |
| 28. II. 1921. | M. R., Normal, 1 Std. n. **100 g Rohrzucker** | 43,5 | 80,14 | 90,84 | 66,00 | 40,6 | 81,57 | 94,22 | **64,00** |
| 2. III. 1921. | Ingen., Nephrose, 2 Std. n. **200 g Rohrzucker** | 45,0 | 82,74 | 91,55 | 71,9 | 43,0 | 83,10 | 93,69 | **69,07** |
| 7. IV. 1921. | Stoklasa, Ischias, 2 Std. nach **20 g Harnstoff** in 200 ccm Wasser | 43,0 | 80,39 | 90,57 | 66,87 | 40,1 | 81,0 | 93,12 | **62,82** |
| 21. IV. 1921. | M. R., Normal, 2 Std. nach **80 g Harnstoff** in 200 ccm $H_2O$ | 43,0 | 80,24 | 90,46 | 66,69 | 40,0 | 81,30 | 92,28 | **64,82** |
| 29. IV. 1921. | Anna Weig., Normal, 2¾ Std. nach **20 g Harnstoff** in 200 ccm $H_2O$ | 40,5 | 80,0 | 90,0 | 66,37 | 40,5 | 80,98 | 91,20 | **63,20** |

In neuerer Zeit haben A. Mayer. Magnus-Lewy, Blum darauf hingewiesen, daß dem Natriumion hydropigene, dem Kaliumion hingegen diuretische Wirkung zukommt. Es gelang Blum durch 14tägige Medikation von Kaliumchlorid bei einer Nephrose eine Ausschwemmung von Chlor und eine Abnahme des Körpergewichtes um 4 kg zu erreichen.

Auch die Beobachtung von R. Magnus, daß intravenöse Injektionen von $Na_2SO_4$ beim Kaninchen eine viel stärkere Diurese hervorrufen als isotonische NaCl-Lösungen, stehen mit unseren Versuchen im Einklang.

Wir können daher im Hinblick auf die Angaben der Literatur annehmen, daß diejenigen Stoffe, welche überhaupt zu einer Entwässerung des Organismus, d. h. zu einer Entquellung der Organkolloide führen, auch auf die Blutkörperchen entquellend wirken und umgekehrt, daß hydropigene Stoffe nicht nur zu einer Quellung der Organkolloide, sondern auch zu einer Quellung der Blutkörperchen führen.

Die physiologischen Versuche in vivo stehen nicht nur in vollem Einklang mit den Ultrafiltrationsversuchen, sondern auch mit den Beobachtungen anderer Autoren. Alle Stoffe, welche die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit beschleunigen, wirken auf Dispersoide entquellend und wirken auf den Organismus und daher auch auf die Blutkörperchen in vivo entwässernd; alle Stoffe, welche die Ultrafiltrationsgeschwindigkeit verlangsamen, wirken quellend und daher im Organismus und auf die Blutkörperchen hydropigen.

## Zusammenfassung.

1. In bezug auf die Quellung von Dispersoiden können zwei Reihen von Stoffen unterschieden werden, solche welche quellend und solche welche entquellend wirken.

2. Mit Hilfe der Ultrafiltrationsmethode wurde nachgewiesen, daß alle Kalisalze, Schwermetallsalze, ferner Harnstoff und Zucker entquellend, alle übrigen Kationen quellend wirken.

3. Der Einfluß der Kationen ist auf den Quellungszustand von Dispersoiden größer als der der Anionen.

4. Für die Anionen wurde dieselbe Quellungsreihe erhalten, wie sie von M. H. Fischer, Hofmeister und Pauli angegeben wurde.

5. Alle diejenigen Substanzen, welche eine Entquellung der Kolloide bewirken, führen in vivo auch zu einer Entquellung der Blutkörperchen.

6. **Alle Substanzen, welche eine Quellung der Kolloide bewirken, führen in vivo auch zu einer Quellung der Blutkörperchen.**

---

## Literatur.

[1]) Astanay, A., Dtsch. Arch. f. klin. Med. 59, 385. 1897. — [2]) Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin. 1912. — [3]) Bechhold, H., Kolloid-Zeitschr. 3, 226. 1908. — [4]) Boehme, A., Verhandl. d. dtsch. Kongr. f. inn. Med. 27, 488. 1910. — [5]) Boehme, A., Arch. f. klin. Med. 103, 522. 1911. — [6]) Blum, Leon, Presse méd. 28, 685. 1920. — [7]) Bürger, Max und Erich Hagemann, Dtsch. med. Wochenschr. 1921, S. 207. — [8]) Bürger, Max und Erich Hagemann, Arch. f. exp. Med. 11, 239. 1920. — [9]) Ellinger, Münch. med. Wochenschr. 1920, S. 1399. — [10]) Fischer, M. H., Das Ödem, 1920. — [11]) Fischer, M. H., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 125, 99. 1908. — [12]) Fischer, M. H., Kolloid-Zeitschr. 17, 1. 1915. — [13]) Fischer, M. H. und Gertrude Moore, Journ. of physiol. 20, 330. 1907. — [14]) Fischer, M. H. und Anne Syles, Kolloid-Zeitschr. 16, 129. 1915. — [15]) Fischer, M. H., Kolloid-Zeitschr. 13, 112. 1913. — [16]) Hofmeister, Fr., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 27, 395. 1890; 28, 210. 1891; 15, 1. 1889. — [17]) Hooker, Marian O. und M. H. Fischer, Kolloid-Zeitschr. 26, 49. 1920. — [18]) Hooker, Marian O. und M. H. Fischer, Kolloid-Zeitschr. 10, 283. 1910. — [19]) Kossler, Alfred, Zentralbl. f. inn. Med. 26, 657. 1897. — [20]) Lamy, Henry und André Mayer, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. 1904, S. 219. — [21]) Lipschitz, W., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 85, 399. 1920. — [22]) Magnus, R., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 44, 396. 1900. — [23]) Magnus-Lewy, A., Dtsch. med. Wochenschr. 1920, S. 595. — [24]) Ostwald, W., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 108, 563. 1905. — [25]) Ostwald, W., Grundriß der Kolloidchemie, 1920. — [26]) Ostwald, W., Kolloid-Zeitschr. 23, 68. 1918. — [27]) Ostwald, W., Kolloid-Zeitschr. 12, 213. 1914. — [28]) Oryng, T., Kolloid-Zeitschr. 17, 14. 1915. — [29]) Pfeifer, Emil, Verhandl. d. 28. Kongr. f. inn. Med. 1911, S. 506. — [30]) Plehn, A., Arch. f. klin. Med. 91, 1. 1907, — [31]) Pribram, Ernst, Kolloidchem. Beih. 2, 11. 1910. — [32]) Pauli, W., Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 223. 1903; 11, 415. 1905. — [33]) Pauli, W., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 78, 315. 1899. — [34]) Pauli, W., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 136, 483. 1910. — [35]) Pauli, W., Ergebn. d. Physiol. 6, 105. 1907. — [36]) Pauli, W. und R. Wagner, diese Zeitschr. 27, 296. 1910. — [37]) Pauli, W., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 71, 338. 1898; 67, 219. — [38]) Pauli, W., Zentralstelle f. Balneologie 3, 13. 1916. — [39]) Pauli, W.. Ergebn. d. Physiol. 1, 1. 1902; 6, 105. 1907.

---

# Physikalisch-chemische Charakterisierung des Lignins aus Winterroggenstroh.

Von

**Ernst Beckmann** und **Otto Liesche,**

experimentell bearbeitet von Fritz Lehmann.

(Mitteilung aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie, Berlin-Dahlem.)

*(Eingegangen am 11. Juni.)*

Mit 1 Abbildung im Text.

## Einleitung.

Kürzlich[1]) ist gezeigt worden, daß die Elementaranalyse der aus Winterroggenstroh gewonnenen Ligninpräparate eine Annäherung an die Bruttoformel $C_{40}H_{44}O_{15}$ mit dem Bruttogewicht 764,6 ergibt.

Die Methoxylbestimmungen lieferten einen mittleren Methoxylgehalt ($CH_3O = 31{,}02$) von 15,81% also ein „Minimalgewicht"[2]) des Lignins von

$$\frac{100 \cdot 31{,}02}{15{,}81} = 196{,}2\,,$$

woraus für die Anzahl der Methoxylgruppen in dem obigen Bruttogewicht 764,6 : 196,2 = 3,9, mithin annähernd 4 folgt.

Die Benzoylierung der Ligninpräparate nach der Pyridinmethode führte im Höchstfalle zu einer Herabsetzung des Methoxylgehaltes auf 10,46%, also zu einem Minimalgewicht der Benzoylverbindung von

$$\frac{100 \cdot 31{,}02}{10{,}46} = 296{,}6\,.$$

Wenn wir hierin das Radikalgewicht eines Benzoylrestes ($C_7H_5O - = 105{,}1$) gegen das Atomgewicht des Wasserstoffs vertauschen ($H = 1{,}0$), erhalten wir:

$$296{,}6 - 105{,}1 + 1{,}0 = 192{,}5\,,$$

---

[1]) E. Beckmann und O. Liesche, Zeitschr. f. angew. Chemie **34** (Aufsatzteil), S. 285. (1921.)

[2]) O. Liesche, Naturwissenschaften **9**, 333. 1921.

also fast genau das vorher gefundene Minimalgewicht. Dementsprechend ist die Anzahl der benzoylierbaren Hydroxylgruppen in dem Bruttogewicht 764,6 : 192.5 = 4,0, d. h. gleich der Anzahl der Methyloxylgruppen.

Die Versuche, das Resultat mit *p*-Brombenzoylchlorid und *p*-Nitrobenzoylchlorid zu bestätigen, standen hiermit in Einklang, zeigten aber etwas größere Abweichungen der Analysenergebnisse.

Schließlich sind (l. c.) Versuche beschrieben worden, 0,1-n-Natronlauge mit Lignin abzusättigen und aus der Analyse der durch Eindampfen gewonnenen Natriumverbindung das Äquivalentgewicht des Lignins als Säure zu erhalten.

Auf 100 g Natriumlignat wurden so im Mittel 12,11 g Natriumchlorid (NaCl = 58,46) gefunden, was zu einem Minimalgewicht der Natriumverbindung von

$$\frac{100 \cdot 58{,}46}{12{,}11} = 482{,}7$$

führt. Wenn wir hierin ein Natriumatom (Na = 23,0) gegen Wasserstoff vertauschen, erhalten wir als Äquivalentgewicht des Lignins

$$482{,}7 - 23{,}0 + 1{,}0 = 462{,}7$$

Die Division dieses Wertes in das obige Bruttogewicht 764,6 gibt 764,6 : 462,7 = 1,65 und läßt auf 2 durch Natrium ersetzbare Wasserstoffatome in dem Bruttogewicht schließen, wobei allerdings die Absättigung der zweiten Säurevalenz unter den eingehaltenen Bedingungen nicht vollständig erfolgt oder die Trennung von überschüssigem, etwa kolloidal durch Filter gehendem Lignin nicht ganz gelungen ist.

Die im nachstehenden beschriebenen Versuche haben das Ziel, das auf Grund der chemisch-analytischen Daten gefundene Bruttogewicht als Molargewicht zu bestätigen sowie die Basizität des Lignins als Säure sicherzustellen.

Im Sinne der methodologischen Betrachtungen, die einer der Verfasser kürzlich veröffentlicht hat[1]), handelt es sich darum, die chemisch-analytischen Befunde dem physikalisch-chemischen Verhalten ein- und unterzuordnen, um zu einem abschließenden Urteil über die Molgröße und über die Anzahl der einzelnen, im Molekül feststellbaren, reaktiven Bestandteile, wie Methoxyl,

[1]) O. Liesche, Naturwissenschaften 9, 330. 1921.

Hydroxyl, Säurewasserstoff, zu gelangen, d. h. um den sicheren Boden zu gewinnen, von dem aus eine weitere Aufklärung der Konstitution des Lignins in Angriff genommen werden kann.

Der experimentellen Untersuchung wurde dasjenige Ligninpräparat zugrunde gelegt, das durch Extraktion des gereiften Winterroggenstrohs mit kalter, methylalkoholischer Natronlauge, Abdestillieren des Methylalkohols unter vermindertem Druck und Fällung des Lignins durch Salzsäure in der Kälte gewonnen wurde.

Wenn in folgendem für dieses Ligninpräparat ein Anschluß an die analytisch abgeleitete Bruttoformel $C_{40}H_{44}O_{15} = 764{,}6$ gesucht und gefunden wurde, so muß doch zur Kritik von vornherein daran erinnert werden, daß auch die Werte anderer, naheliegender Bruttoformeln (z. B. $C_{42}H_{46}O_{16} = 808{,}6$) noch innerhalb der Fehlergrenzen sowohl der analytischen wie der physikalisch-chemischen Ergebnisse liegen. Die Formel $C_{40}H_{44}O_{15} = 764{,}6$ kann daher nur als vorläufiger Anhaltspunkt für die rechnerische Auswertung und Deutung der experimentellen Befunde dienen.

Schließlich sei noch besonders darauf hingewiesen, daß es sich hier um die Charakterisierung eines Ligninpräparates handelt, das aus einem bestimmten Teil einer Pflanze (Roggenhalm) in einem bestimmten Stadium (ausgereiftes und getrocknetes Stroh) unter bestimmten Bedingungen (Vermeidung höherer Temperaturen unter Verzicht auf Erschöpfung) isoliert worden ist.

Auf diese Faktoren ist um so mehr zu achten, da weitere mit Herrn cand. chem. Lindner unternommene Versuche gezeigt haben, daß nicht nur in verschiedenen Pflanzen, sondern bei der gleichen Pflanze in verschiedenen Altersstufen, ja vielleicht sogar gleichzeitig nebeneinander, verschiedene Ligninarten vorhanden sind, die bei ungefähr gleichem, qualitativen Verhalten gewisse Unterschiede in der quantitativen Zusammensetzung aufweisen. Besonders der Methoxylgehalt hat sich als variabel und brauchbar zur ersten Unterscheidung erwiesen[1]).

## A. Das Molargewicht des Lignins in organischen Lösungsmitteln.

Das in der Einleitung gekennzeichnete Ligninpräparat aus Winterroggenstroh löst sich in Phenol und Eisessig molekulardispers, da es in diesen Lösungsmitteln eine mit der Konzentration

[1]) Veröffentlichung erfolgt demnächst.

zunehmende Gefrierpunktserniedrigung, bzw. Siedepunktserhöhung bewirkt.

Dagegen bleibt in Pyridin, trotz reichlicher Löslichkeit eine Siedepunktsänderung aus, so daß hier kolloidale Lösung angenommen werden muß, wie wahrscheinlich auch in anderen basischen Lösungsmitteln, z. B. Chinolin, Anilin, Toluidin.

### a) Molargewichtsbestimmung des Lignins in gefrierendem Phenol.

Zur Verwendung gelangte eine zwischen 181° und 181,5° übergehende Fraktion von zweimal vorher unter sorgfältigem Feuchtigkeitsausschluß destilliertem Phenol. Der Gefrierpunkt dieser Fraktion wurde zu 39,4° bestimmt.

Der kryoskopische Apparat entsprach der zuletzt von E. Beckmann und C. Platzmann[1]) für die Untersuchung des Schwefels benutzten Anordnung mit elektromagnetischem Rührer und einem Siedemantel als Temperaturbad, dessen Temperatur mit Hilfe eines angeschlossenen Manostaten[2]) beliebig eingestellt und variiert werden kann. Im vorliegenden Falle wurde als Siedeflüssigkeit teils Methylalkohol, teils Chloroform verwendet. Namentlich bei letzterem mußte durch eine intensive Rückflußkühlung mittels eines Zinn-Schlangenkühlers dafür gesorgt werden, daß während des Versuches keine zu großen Mengen der Siedeflüssigkeit unter dem reduzierten Druck als Dampf weggeführt wurden.

Da Phenol stark zur Unterkühlung neigt, sind zuverlässige Resultate nur dann zu erzielen, wenn die Konvergenztemperatur[3]) möglichst genau eingehalten und das Gefrieren durch Impfen eingeleitet wird.

Den Molargewichtsbestimmungen ging eine Neubestimmung der kryoskopischen Konstante *K* des Phenols mit Naphthalin ($C_{10}H_8$ = 128,1) als gelöster Substanz unter denselben Versuchsbedingungen voraus.

---

[1]) E. Beckmann und C. Platzmann, Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chemie **102**, 201. 1918.

[2]) E. Beckmann und O. Liesche, Zeitschr. f. physikal. Chemie **88**, 13. 1914.

[3]) W. Nernst, Theoretische Chemie, 8.—10. Aufl., S. 302. 1921.

Tabelle I.
Molare Gefrierpunktserniedrigung von 100 g Phenol

| Phenol $G$ | Naphtalin $g$ | Erniedrigung $\varDelta$ | $K = \frac{128{,}1 \cdot G \cdot \varDelta}{100 \cdot g}$ |
|---|---|---|---|
| 26,47 | 0,142 | 0,294 | 70,2 |
| 26,47 | 0,269 | 0,571 | 72,0 |
| 26,47 | 0,377 | 0,784 | 70,5 |
| | | | Mittel: 70,9 |

Der gefundene Mittelwert $K = 70{,}9$ ist etwas kleiner als die früher von Eykmann[1]) angegebenen Werte (74 und 72,7).

Tabelle II.
Molargewichtsbestimmung des Lignins.

| Phenol $G$ | Lignin $g$ | Erniedrigung $\varDelta$ | $M = \frac{100 \cdot 70{,}9 \cdot g}{G \cdot \varDelta}$ |
|---|---|---|---|
| 31,56 | 0,192 | 0,055 | 784 |
| 20,92 | 0,400 | 0,178 | 762 |
| {21,72 | 0,241 | 0,088 | 894} |
| {21,72 | 0,528 | 0,163 | 1057} |

Trotz der vorhandenen Unregelmäßigkeiten nähern sich die beiden ersten Werte dem analytischen Bruttogewicht 764,6, während die beiden Werte der letzten Serie auf beginnende Assoziation der einfachen Moleküle hindeuten.

b) Molargewichtsbestimmung des Lignins in siedendem Eisessig.

Der verwendete Eisessig „Kahlbaum" (frei von höheren Homologen) wurde in der früher beschriebenen Weise[2]) durch fraktioniertes Schmelzen und Destillieren sorgfältig gereinigt und zeigt hierauf einen konstanten Siedepunkt von 118°. Die allerletzten Feuchtigkeitsspuren wurden durch Abdestillieren eines Teiles des Lösungsmittels aus dem Siedeapparat selbst beseitigt, woran sich unmittelbar, ohne Unterbrechung des Siedens, die Bestimmung mit gelöster Substanz anschloß[3]).

[1]) J. E. Eykmann, Zeitschr. f. physikal. Chemie 3, 207. 1889; 4, 502. 1889.

[2]) E. Beckmann und O. Liesche, Zeitschr. f. physikal. Chemie 92, 427. 1917.

[3]) E. Beckmann, Zeitschr. f. physikal. Chemie 78, 732. 1912.

Das Ebullioskop bestand aus einem Siedeapparat mit elektrischer Innenheizung und einem Dampfmantel mit siedendem Eisessig als Wärmeschutz[1]).

Auch hier wurde eine Neubestimmung der ebullioskopischen Konstante *E* des Eisessigs, und zwar mit Benzil ($C_{14}H_{10}O_2$ = 210,1) als gelöster Substanz vorweggenommen.

Tabelle III.
Molare Siedepunktserhöhung von 100 g Eisessig.

| Eisessig $G$ | Benzil $g$ | Erhöhung $\Delta$ | $E = \frac{210{,}1 \cdot G \cdot \Delta}{100 \cdot g}$ |
|---|---|---|---|
| 21,33 | 0,165 | 0,111 | 30,2' |
| 21,33 | 0,421 | 0,302 | 32,1 |
| 21,33 | 0,644 | 0,451 | 31,4 |
| 21,33 | 0,858 | 0,591 | 30,9 |
| | | | Mittel: 31,2 |

Der im folgenden benutzte Mittelwert $E = 31{,}2$ stimmt mit dem von uns zuletzt angegebenen (30,7)[2]) hinlänglich überein.

Auf Grund früherer Erfahrungen und Versuche[3]) wurde nunmehr die Molargewichtsbestimmung des Lignins nicht in reinem Eisessig, sondern in einer verdünnten Benzillösung ausgeführt, die durch vorheriges Auflösen von ca. 0,1 g Benzil in dem siedenden Eisessig hergestellt wurde, um eine bessere Schaumbildung und dadurch eine innigere Durchmischung von Dampf- und Flüssigkeitsphase zu erreichen. Die unten angegebenen Erhöhungen beziehen sich also auf den Siedepunkt der verdünnten Benzillösung als Nullpunkt.

Tabelle IV.
Molarbestimmung des Lignins.

| Eisessig $G$ | Lignin $g$ | Erhöhung $\Delta$ | $M = \frac{100 \cdot 31{,}2 \cdot g}{G \cdot \Delta}$ |
|---|---|---|---|
| 21,57 | 0,353 | 0,063 | 811 |
| 23,07 | 0,369 | 0,065 | 768 |
| 22,74 | 0,137 | 0,023 | 817 |
| 22,74 | 0,236 | 0,038 | 852 |
| 23,34 | 0,493 | 0,074 | 891 |

[1]) E. Beckmann, Zeitschr. f. physikal. Chemie 63, 187. 1908.

[2]) E. Beckmann und O. Liesche, Zeitschr. f. physikal. Chemie 88, 425. 1914.

[3]) E. Beckmann, Zeitschr. f. physikal. Chemie 63, 204. 1908.

Auch hier ergibt sich eine deutliche Annäherung an das analytische Bruttogewicht 764,6 sowie eine Neigung der einfachen Moleküle zur Assoziation. Die letzte Bestimmung ist zur Kontrolle, ohne vorher gelöstes Benzil, angefügt und zeigt, daß das Benzil eine etwaige größere Störung der Molargewichtsbestimmung des Lignins nicht verursacht hat.

**B. Molargewicht und Dissoziation des Natriumlignates in Wasser.**

Das für die Untersuchung vorliegende Ligninpräparat löste sich vollkommen in verdünnter Natronlauge, während sich das freie Lignin selbst als praktisch unlöslich in Wasser erwies. Titrationsversuche und Versuche zur Isolierung und Analyse des Natriumlignates hatten — noch nicht ganz zweifelsfrei — Zweiwertigkeit des nunmehr als Molekül erkannten Ligninkomplexes $C_{40}H_{44}O_{15}$ = 764,6 ergeben.

Es galt daher, die Zweiwertigkeit des Ligninmoleküls als Säure bzw. die Richtigkeit des theoretischen Äquivalentgewichtes $S = {}^1/_2 764{,}6 = 382{,}3$ auf physikalischem Wege sicherzustellen.

Auf Grund der angedeuteten Befunde war zu erwarten, daß der Gefrierpunkt einer verdünnten Natronlauge beim Auflösen wachsender Mengen von Lignin so lange eine Erhöhung erfährt, bis auf je 2 Äquivalente NaOH (= 80,02 g) 764, 6 g Lignin gelöst sind, um bei weiterem Eintragen von Lignin konstant zu bleiben.

Die entsprechenden Versuche wurden in einem Beckmannschen Kryoskop mit elektromagnetischem Rührer und Luftmantel ausgeführt, der sich in einem durch Eiswasser und Kochsalz auf — 5° gehaltenen Kältebad befand. Das Gefrieren wurde durch Impfen in der von E. Beckmann und P. Waentig[1]) angegebenen Weise mit Hilfe von kleinen Stickperlen eingeleitet.

Die Temperaturablesungen geschahen an dem geprüften Beckmannthermometer P. T. R. 55231, nach dessen Prüfungsschein sämtliche unten verzeichneten Werte korrigiert sind.

Zu den Versuchen wurden ca. 0,1 n- und 0,2 n-Natronlauge verwandt, auf deren Reindarstellung und genaue Titerstellung besondere Sorgfalt gelegt wurde, zumal die Lösungen auch zu den im folgenden Abschnitt beschriebenen Leitfähigkeitsmessungen dienen sollten.

[1]) E. Beckmann und P. Waentig, Zeitschr. f. anorg. Chemie 67, 32. 1910.

Das benutzte Leitfähigkeitswasser konnte in sehr befriedigender Beschaffenheit unter ausschließlicher Verwendung von Glasgefäßen aus gutem Geräteglas dadurch erhalten werden, daß Kühler, Vorlagen und Aufbewahrungsgefäße wiederholt und reichlich mit strömendem Wasserdampf vorbehandelt wurden[1]). Das der Destillationsanlage des Institutes entnommene Wasser wurde nach der Vorschrift von C. H. Hulett[2]) zuerst mit einer schwefelsauren Lösung von Kaliumbichromat, sodann mit Baryumhydroxydlösung weiter destilliert, wobei durch gemässigtes Sieden, durch Anwendung von Tonscherben als Siedeerleichterer und mit Hilfe eines gutwirkenden Tropfenfängers jedes Überspritzen vermieden wurde.

Die spezifische Leitfähigkeit des so erhaltenen Wassers wurde bei 0° zu $k = 0{,}53598 \cdot 10^{-5}$ festgestellt.

Durch Einpressen von Natriumdraht in einer Wasserstoffatmosphäre wurde die reine, kohlensäurefreie Natronlauge in Anlehnung an eine von Th. Paul[3]) gegebene Vorschrift erhalten.

Der Titer der beiden zur Verwendung gelangten Laugen wurde mit Hilfe reinster Merckscher Bernsteinsäure, ihr spezifisches Gewicht durch Auswägung in einer Normalpipette bestimmt.

Die Zusammensetzung der beiden Laugen ist durch folgende Zahlenangaben charakterisiert:

Tabelle V.

| | Lauge I ca. 0,1 – n | Lauge II ca. 0,2 – n |
|---|---|---|
| Normalität bei Zimmertemperatur | 0,09121 | 0,20429 |
| Gramm NaOH in 1 l bei Zimmertemperatur | 3,6492 | 8,1736 |
| Gramm-Gewicht von 1 l bei Zimmertemperatur | 1004,9 | 1009,3 |
| Gramm NaOH auf 1000 g Wasser | 3,6449 | 8,1646 |
| Gramm Wasser auf 80,02 g NaOH | 21954 | 9801 |
| Gramm Lauge auf 80,02 g NaOH | 22034 | 9881 |

Für die einzelnen Versuchsserien wurden 25—30 g der betreffenden Lauge genau abgewogen. In den folgenden Tabellen sind die vor jeder Gefrierpunktsbestimmung insgesamt gelösten Ligninmengen auf 2 Äquivalente = 80,02 g NaOH umgerechnet.

Der Gefrierpunkt des reinen Leitfähigkeitswassers am Beckmannthermometer wurde bei 8,760° der willkürlichen Skala abgelesen. Die Tabellen enthalten die jeweiligen Differenzen gegen diesen Fixpunkt, d. h. unmittelbar die Werte der Celsiusskala.

Die Versuchsdaten bestätigen die obigen Schlußfolgerungen: Der Gefrierpunkt der Laugen steigt nicht mehr erheblich oder

[1]) Ostwald - Luther, Physiko-chemische Messungen, S. 469. Leipzig 1910.

[2]) G. A. Hulett, Zeitschr. f. physikal. Chemie 21, 299. 1896.

[3]) Th. Paul, Zeitschr. f. physikal. Chemie 14, 109. 1894.

## Tabelle VI.

### Versuchsserien mit Lauge I (ca. 0,1-normal).

(22034 g der Lauge enthalten 80,02 g NaOH.)

| Lignin auf 80,02 g NaOH g | Gefrierpunkt an der Celsiusskala | Lignin auf 80,02 g NaOH g | Gefrierpunkt an der Celsiusskala |
|---|---|---|---|
| 0,00 | −0,368 | 0,00 | −0,368 |
| 218,24 | −0,298 | 196,12 | −0,296 |
| 533,18 | −0,228 | 445,30 | −0,222 |
| **741,50** *) | **−0,183** *) | **768,70** *) | **−0,162** *) |
| 875,42 | −0,180 | 1031,34 | −0,158 |
| 1202,76 | −0,180 | 1295,52 | −0,166 |

## Tabelle VII.

### Versuchsserien mit Lauge II (ca. 0,2-normal),

(9881 g der Lauge enthalten 80,02 g NaOH.)

| Lignin auf 80,02 g NaOH g | Gefrierpunkt an der Celsiusskala | Lignin auf 80,02 g NaOH g | Gefrierpunkt an der Celsiusskala |
|---|---|---|---|
| 0,00 | −0,742 | 0,00 | −0,766 |
| 225,26 | −0,607 | 173,06 | −0,662 |
| 445,90 | −0,474 | 271,88 | −0,601 |
| 624,66 | −0,396 | 457,20 | −0,505 |
| **829,62** *) | **−0,311** *) | 618,00 | −0,399 |
| 992,66 | −0,305 | **885,24** *) | **−0,337** *) |
| 1276,80 | −0,309 | 1021,80 | −0,329 |
| | | 1262,98 | −0,317 |
| | | 1459,36 | −0,309 |
| | | 1582,00 | −0,309 |

jedenfalls in viel geringerem Grade, sobald auf 2 Äquivalente = 80,02 g NaOH eine Ligninmenge eingetragen ist, die ungefähr dem Molargewicht 764,6 entspricht. In den Tabellen sind die diesem Werte nahestehenden Versuchsmengen besonders (— —*) gekennzeichnet, ebenso wie die zugehörigen Gefrierpunkte.

Wenn wir demnach berechtigt sind, als Äquivalentgewicht des Lignins $S = {}^1/_2 764{,}6 = 382{,}3$ anzuerkennen und von der Molekularformel des Lignins $C_{40}H_{44}C_{15}$ diejenige des Natriumlignates $C_{40}H_{42}O_{15}Na_2$ mit dem theoretischen Molargewicht $M_0 = 808{,}5$ abzuleiten, so erlauben die obigen Versuchsdaten aus der Gefrierpunktserniedrigung des Wassers ein empirisches Molargewicht $M'$ des Natriumlignates zu berechnen.

Zu diesem Zweck nehmen wir vorläufig an, daß die Absättigung eines Moles Lignin durch 2 Äquivalente NaOH gerade bei den besonders hervorgehobenen (— —*) Ligninmengen erfolgt sei, indem diese die näherungsweisen Molargewichte darstellen.

Bezeichnen wir diese Mengen mit $x$, so berechnen sich die entsprechenden Mengen des gebildeten Natriumlignates zu:

$$g = x - 2{,}02 + 46{,}0 = x + 43{,}98.$$

Das Gewicht des Wassers als Lösungsmittel finden wir leicht aus dem oben angegebenen Laugengewicht u, welches 80,02 g NaOH enthält, indem wir diese 80,02 g abziehen und das bei der Absättigung gebildete Wasser $2 \cdot H_2O = 36{,}03$ zuzählen, zu:

$$G = u - 80 + 36 = u - 44.$$

Als kryoskopische Konstante des Wassers benutzen wir den sehr genau feststehenden Wert 18,60[1]) (bezogen auf 100 g).

Tabelle VIII.

Molargewicht des Natriumlignates in gefrierendem Wasser.

| Wasser $G$ | Na-Lignin $g$ | Erniedrigung $\Delta$ | $M' = \frac{100 \cdot 18{,}60 \cdot g}{G \cdot \Delta}$ | |
|---|---|---|---|---|
| 21 990 | 785,48 | 0,183 | 363,1 | 392,4 |
| 21 990 | 807,68 | 0,162 | 421,7 | |
| 9837 | 873,60 | 0,311 | 531,1 | 512,2 |
| 9837 | 879,22 | 0,337 | 493,3 | |

Es werden also wesentlich kleinere Molargewichte gefunden, als dem gesamten Ligninnatriumkomplex entspricht, und zwar nehmen die Molargewichte mit wachsender Verdünnung ab auf ungefähr die Hälfte des theoretischen Wertes.

Hieraus folgt die Annahme einer in der Hauptsache einstufigen elektrolytischen Dissoziation nach dem Schema:

$$C_{40}H_{42}O_{15}Na_2 = C_{40}H_{42}O_{15}Na' + Na\ ,$$

denn eine einigermaßen weitgehende zweistufige Dissoziation oder Hydrolyse würde zu viel kleineren anomalen Molargewichten führen.

Eine Hydrolyse ist übrigens dadurch ausgeschlossen, daß die Lösungen mit überschüssigem Lignin als Bodenkörper schwach sauer reagieren.

Es liegt nunmehr nahe, aus den gefundenen anomalen Molargewichten die zugehörigen Dissoziationsgrade,

$$\delta = \frac{M_0 - M'}{M'}, \qquad (1)$$

[1]) W. A. Roth, Zeitschr. f. Elektrochem. 26, 288. 1920.

zu berechnen und die Annahme einer einstufigen Dissoziation an der Gültigkeit des Verdünnungsgesetzes

$$C = n_1 \cdot \frac{\delta_1^2}{(1-\delta_1)} = n_2 \cdot \frac{\delta_2^2}{(1-\delta_2)} \,. \tag{2}$$

zu prüfen, worin $n_1$ und $n_2$ die Anzahl der im Liter gelösten Mole, $\delta_1$ und $\delta_2$ die zugehörigen Dissoziationsgrade darstellen.

Um die Gleichung (2) rein empirisch zu verifizieren, müßte ein größeres Versuchsmaterial vorliegen, aus dem sich sichere Mittelwerte für den Molekularkomplex des Natriumlignates und für die anomalen, auf Dissoziation beruhenden Molargewichte ergeben würde.

Es wurde deshalb wenigstens versucht, zu zeigen, daß die experimentellen Daten mit dem durch eine einstufige Dissoziation bedingten Verdünnungsgesetz (2) nicht im Widerspruch stehen, indem eine graphische Ausgleichung der empirischen Werte vorgenommen wurde.

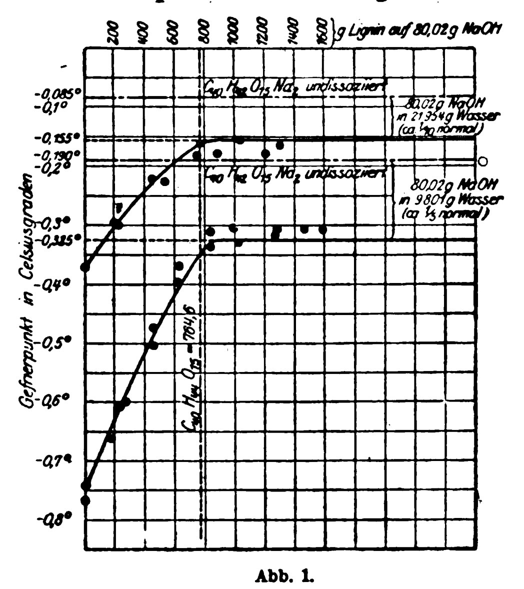



Abb. 1.

In dem beistehenden Diagramm sind die horizontalen Linien der konstant bleibenden Gefrierpunkte auf die Temperatur von — 0,155° und — 0,325° gelegt. An den eingezeichneten Versuchsdaten erkennt man, daß dies — trotz einer gewissen Willkür — den Tatsachen annähernd entspricht.

Ebenso läßt sich der Beginn des horizontalen Verlaufes der Gefrierpunktskurven mit dem Verhältnis von 2 Äquivalenten = 80,02 g NaOH zu der als Molgröße betrachteten Ligninmenge von 764,6 g gut in Einklang bringen.

Wir nehmen daher für beide Konzentrationen bei Erreichung des konstanten Gefrierpunktes 764,6 g Lignin, entsprechend

808,5 g Na-Lignat als gelöst an. Die Wassermengen $G$, die wir auch als Volumen der Lösung in ccm bei 0° verstehen können, sind dieselben, wie in der vorigen Berechnung.

Die auf 1 Liter bezogenen Molzahlen $n$ für Gleichung (2) folgen daraus ohne weiteres zu

$$n = \frac{1000}{G}.$$

Hiermit sind alle Daten zur Berechnung der anomalen Molargewichte $M'$, der Dissoziationsgrade $\delta$ und der Verdünnungskonstanten $C$ gegeben:

Tabelle IX.

| | I | II |
|---|---|---|
| Na-Lignat ($g$) | 808,5 | 808,5 |
| Wasser ($G$) | 21990 | 9937 |
| Molzahl $n = 1000 : G$ | 0,045475 | 0,101657 |
| Erniedrigung ($\Delta$) | 0,155° | 0,325° |
| $M' = \frac{1}{\Delta} \cdot 1{,}860 \cdot 808{,}5 \cdot n$ | 441,2 | 470,4 |
| $\delta = \frac{808{,}5 - M'}{M'}$ | 0,8325 | 0,7188 |
| $C = n \cdot \frac{\delta^2}{(1 - \delta)}$ | 0,188 | 0,187 |

Dadurch, daß die Werte für die Konstante $C$ bei beiden Verdünnungen fast identisch ausfallen, erscheint die Annahme einer im wesentlichen einstufigen Dissoziation gestützt. Als erwiesen kann sie nur insoweit betrachtet werden, wie die experimentellen Werte sich den ausgezeichneten Horizontalen des Diagrammes anlehnen.

## C. Die elektrolytische Leitfähigkeit wäßriger Natriumlignatlösungen.

Falls die Annahme einer einstufigen elektrolytischen Dissoziation in dem betrachteten Konzentrationsbereich richtig ist, muß zwischen den molaren Leitfähigkeiten bei 0° C $\mu_1$ und $\mu_2$ einerseits, den soeben berechneten Dissoziationsgraden $\delta_1$ und $\delta_2$ anderseits folgende Beziehung bestehen:

$$\mu_1/\delta_1 = \mu_2/\delta_2 . \tag{3}$$

Die Leitfähigkeitsmessungen wurden mit den gleichen Natronlaugen ausgeführt, die zu den Gefrierpunktmessungen benutzt worden waren.

Um eine vollständige Absättigung der Laugen durch Lignin zu erzielen, wurden diese im Gefrierapparat 1 bis 2 Stunden mit überschüssigem Lignin elektromagnetisch gerührt und dann erst in das Leitfähigkeitsgefäß gebracht, das sich in einem Bade aus schmelzendem Eis befand.

Die Kapazität des Leitfähigkeitsgefäßes wurde mit einer 0,1 *n*-Lösung von chemisch reinem Kaliumchlorid bestimmt und betrug rund 0,20, nämlich bei einem Teil der Versuche 0,199392 bei einem anderen Teil der Versuche — infolge einer geringen Lageänderung der Elektroden — 0,202090. Die Elektroden waren nach Lummer-Kurlbaum[1]) platiniert.

Von den zunächst gefundenen spezifischen Leitfähigkeiten der Na-Ligninlösungen sind zwei Korrektionswerte in Abzug zu bringen: einmal die spezifische Leitfähigkeit des mit reinem Lignin gesättigten Leitfähigkeitswasser, sodann diejenige Erhöhung der spezifischen Leitfähigkeit, die durch etwaige leitende Verunreinigungen des benutzten Ligninpräparates bedingt sind.

Um diese Korrektionswerte zu finden, wurden zunächst zwei Leitfähigkeitsmessungen des mit verschiedenen Mengen Lignin versetzten und gerührten Leitfähigkeitswassers vorgenommen.

Tabelle X.

| | I. | II. |
|---|---|---|
| Gramm Lignin auf 1000 g Wasser . . . . . . . . | $\gamma_a = 25{,}688$ | $\gamma_b = 74{,}441$ |
| Spezifische Leitfähigkeit . . | $k_a = 3{,}21724 \cdot 10^{-5}$ | $k_b = 5{,}28541 \cdot 10^{-5}$ |

Wenn $k_l$ die spezifische Leitfähigkeit des an reinem Lignin gesättigten Wassers und $k_m$ diejenige Erhöhung der spezifischen Leitfähigkeit ist, welche durch die Verunreinigungen von 1 g Lignin in 1000 g Wasser verursacht wird, so gelten die Gleichungen:

$$k_l = \frac{k_b \cdot \gamma_a - k_a \cdot \gamma_b}{\gamma_b - \gamma_a} = 2{,}12678 \cdot 10^{-5}\,; \tag{4}$$

$$k_m = \frac{k_b - k_a}{\gamma_b - \gamma_a} = 0{,}04245 \cdot 10^{-5}\,. \tag{5}$$

Nach Messung der spezifischen Leitfähigkeiten der Na-Lignatlösungen ($k'$) ergibt sich nun zahlenmäßig folgendes Resultat:

[1]) F. Kohlrausch, Wiedemanns Annalen 60, 315. 1897.

**Tabelle XI.**

| | I. | II. |
|---|---|---|
| Angewandt Lignin auf 80.02 g NaOH | 1183 g | 1114 g |
| Angewandt Lignin auf 1000 g Wasser der Na-Lignat-Lösung ($\gamma$) . . . . . | 53,797 | 113,245 |
| Volumen Wasser auf 808,5 g Na-Lignat in Litern ($v$) . . . . . . . . . . . | 21.990 | 9,837 |
| Spezifische Leitfähigkeit der Lösung ($k'$) nach direkter Messung . . . . . . | $216.268 \cdot 10^{-5}$ | $377,507 \cdot 10^{-5}$ |
| Davon ab: $k_m \cdot \gamma = 0,04245 \cdot \gamma$ . . . | $-2,127 \cdot 10^{-5}$ | $-4,807 \cdot 10^{-5}$ |
| Spezifische Leitfähigkeit der mit reinem Lignin gesättigten Lauge . . . . . | $213.984 \cdot 10^{-5}$ | $372,700 \cdot 10^{-5}$ |
| Davon ab: $k_l = 2,127 \cdot 10^{-5}$ . . . . | $-2,127 \cdot 10^{-5}$ | $-2,127 \cdot 10^{-5}$ |
| Spezifische Leitfähigkeit des gelösten Na-Lignates ($k$) . . . . . . . . . | $211,984 \cdot 10^{-5}$ | $370,573 \cdot 10^{-5}$ |
| Molare Leitfähigkeit $\mu = 1000 \cdot k \cdot v$ . | **46,59** | **36,45** |
| Dissoziationsgrad $\delta$ (s. oben) | 0,8325 | 0,7188 |
| $\mu/\delta$ . . . . . . . . . . . . . . . | **56,0** | **50,7** |

Die Übereinstimmung der für beide Konzentrationen erhaltenen Werte des Verhältnisses $\mu/\delta$ kann als befriedigend angesehen werden, wenn man bedenkt, daß es sich um das Verhältnis zweier Versuchsdaten handelt, die ganz verschiedene Erscheinungsgebiete, nämlich die Dampfdruckerniedrigung des Wassers einerseits, die Leitfähigkeitsänderung des Wassers anderseits betreffen.

Außerdem ist zu berücksichtigen, daß die in geringem Maße einsetzende zweite Stufe der elektrolytischen Dissoziation:

$$C_{40}H_{42}O_{15}Na' = C_{40}H_{42}O_{15}'' + Na ,$$

die namentlich bei der größeren Verdünnung angenommen werden muß, das Resultat ungünstig beeinflußt.

An dieser Stelle sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß das Verhältnis $\mu/\delta$ den fingierten Grenzwert $\mu_\infty$ der molaren Leitfähigkeit darstellt, der sich bei unendlicher Verdünnung ergeben würde, wenn die angedeutete zweite Dissoziationsstufe überhaupt ausbliebe.

### D. Prüfung der Basizität des Lignins an der Ostwaldschen Valenzregel.

Durch die Prüfung der Ostwaldschen Valenzregel[1]) kann eine letzte Bestätigung nicht nur der Zweiwertigkeit des Lignins

[1]) W. Ostwald, Zeitschr. f. physikal. Chemie 2, 901. 1888.

als Säure, sondern auch des vorausgesetzten stufenweisen elektrolytischen Zerfalles des Natriumlignates gesucht werden.

Denn so viel läßt sich über die theoretische Bedeutung der rein empirisch gefundenen Regel behaupten: In der Regel gibt sich die Valenz einer Säure gerade dadurch kund, daß bei großer Verdünnung sämtliche Dissoziationsstufen des Natriumsalzes erreicht werden.

Anders wäre es nicht zu verstehen, daß die äquivalente Leitfähigkeit des Salzes bei der vorgeschriebenen Verdünnung des Äquivalentes von 32 auf 1024 Liter um einen Betrag zunimmt, welcher der Valenz, d. h. der Anzahl der überhaupt möglichen Dissoziationsstufen des Salzes proportional ist.

Wenn nämlich das unter *B* bestätigte Äquivalentgewicht des Lignins, $S = 382{,}3$, mit NaOH neutralisiert, einmal auf 32, sodann auf 1024 Liter gebracht wird, und wenn die äquivalenten Leitfähigkeiten bei beiden Verdünnungen die Werte $\lambda_{32}$ und $\lambda_{1024}$ ergeben, so ist die als unbekannt vorausgesetzte Wertigkeit $s$ des Lignins als Säure nach der Valenzregel:

$$s = \frac{\lambda_{1024} - \lambda_{32}}{10}. \tag{6}$$

Nimmt man für $s$ statt der berechneten die nächstliegende ganze Zahl, so muß für die undissoziierte Säure, also für das freie Lignin wieder das theoretische Molargewicht:

$$M = s \cdot S = 764{,}6 \tag{7}$$

unabhängig von der früheren kryoskopischen und ebullioskopischen Bestätigung des letzteren folgen.

Zur Ausführung der Versuche wurde die ca. 0,1-n-Natronlauge genau auf die Normalität 1 : 32 gebracht, 30 ccm der so verdünnten Lauge wurden im Gefrierapparat mit überschüssigem Lignin (0,56 g) gerührt, hierauf in das Leitfähigkeitsgefäß filtriert und gemessen.

Ein anderer Teil wurde vor der Leitfähigkeitsmessung auf das 32fache verdünnt, d. h. auf die Normalität 1 : 1024 gebracht.

Die Messungen ergaben folgende Resultate (s. Tabelle XII):

Auch hier bleibt das Experiment in zulänglicher Übereinstimmung mit den Voraussetzungen und bestätigt die Zweiwertigkeit des Lignins als Säure, d. h. das angenommene Verhältnis zwischen Molargewicht und Äquivalentgewicht.

Tabelle XII.

| | I. | II. |
|---|---|---|
| $v$ Liter Wasser auf 40,01 g NaOH | 32 | 1024 |
| Angewandt Gramm Lignin auf 1000 g Wasser ($\gamma$) . . . . . . . . . . . | 18,667 | 0,5833 |
| Spezifische Leitfähigkeit der Lösung ($k^1$) | $94,2789 \cdot 10^{-5}$ | $4,79244 \cdot 10^{-5}$ |
| Davon ab: $k_m \cdot \gamma = 0,04245 \cdot \gamma$ . . . | $-0,7824 \cdot 10^{-5}$ | $-0,02449 \cdot 10^{-5}$ |
| Spezifische Leitfähigkeit ($k$) . . . . . | $93,4965 \cdot 10^{-5}$ | $4,76795 \cdot 10^{-5}$ |
| Äquivalentleitfähigkeit $\lambda = 1000 \cdot k \cdot v$ | 29,92 | 48,82 |
| Differenz $D = \lambda_{1024} - \lambda_{32}$ . . . . . . | 18,9 | |
| $D : 10 = s$ . . . . . . . . | 1,89 ∾ **2** | |
| $s \cdot S = 2 \cdot 382,3 = M$ . . . | **764,6** | |

## Zusammenfassung und Schlußfolgerung.

Die analytischen Daten hatten für das aus Winterroggenstroh durch kalte Extraktion mit methylalkoholischer Natronlauge gewonnene Lignin zur Annahme folgender Werte geführt:

Molargewicht: $M = 764,6$;

Äquivalentgewicht: $M = 382,3$, d. h. Wertigkeit: $s = 2$.

Molargewichtsbestimmungen in gefrierendem Phenol und in siedendem Eisessig bestätigen die Größe des Molargewichtes. Gefrierpunktsbestimmungen von wäßriger Natronlauge, die mit Lignin gesättigt war, zeigten Übereinstimmung mit dem angenommenen Äquivalentgewicht.

Die Berechnung der Molargewichte des Natriumlignates in verschieden konzentrierter Lösung (ca. 0,1 und 0,2 normal) wies auf eine im wesentlichen einstufige Dissoziation hin, die als elektrolytische Dissoziation gedeutet wurde:

$$C_{40}H_{42}O_{15}Na_2 = C_{40}H_{42}O_{15}Na' + Na^{\cdot}.$$

Nach graphischer Ausgleichung der ermittelten Gefrierpunkte ließ sich dieser binäre Zerfall mit dem Verdünnungsgesetz in Einklang bringen.

Die Bestimmung der molaren Leitfähigkeit des Natriumlignates bei den gleichen Konzentrationen ergab ein leidlich konstantes Verhältnis zu den kryoskopisch berechneten Dissoziationsgraden.

Die Prüfung der Ostwaldschen Valenzregel brachte eine neue Bestätigung der vorausgesetzten Werte und offenbarte die bei größerer Verdünnung auftretende zweite Stufe der elektrolytischen Dissoziation:

$$C_{40}H_{42}O_{15}Na' = C_{40}H_{42}O_{15}'' + Na^{\cdot}.$$

Somit konnten alle Annahmen bestätigt und die nicht zu verschweigenden Unsicherheiten einzelner Befunde dadurch weitgehend aufgehoben werden, daß ihre gegenseitige theoretische Verknüpfung nirgends zu einem Widerspruch führte, vielmehr immer hinlängliche Übereinstimmung ergab.

Es mag vielleicht überraschend erscheinen, daß in einer 0,2-normalen Lösung die erste Dissoziationsstufe des Natriumlignates entsprechend dem berechneten Dissoziationsgrad nur bis zu $^3/_4$ ihres vollen Betrages erreicht ist, während die zweite Dissoziationsstufe sich überhaupt noch nicht wesentlich bemerkbar macht und erst bei größter Verdünnung in erheblichem Maße zur Geltung kommt.

Demgegenüber muß aber daran erinnert werden, daß auch die sauren Bestandteile des Ackerbodens Alkaliionen zurückhalten. Ein spezifisches Verhalten gerade der Huminsäuren zu den Alkalien folgt schon aus älteren Untersuchungen z. B. von Berthelot und André[1]) sowie aus den neueren Arbeiten von Odèn[2]). Auf letztere sei besonders deshalb hingewiesen, weil sie in Problemstellung und Resultaten manche Analogien zu der vorliegenden Arbeit über Lignin aufweisen.

Es wäre von Wichtigkeit, festzustellen, wie die Dissoziation der Humate und Lignate von dem Kation abhängt, ob insbesondere $K^·$ noch schwerer abdissoziiert als Na.

Die auswählende Adsorption der Alkaliionen durch den Ackerboden dürfte doch letzten Endes auf eine verschiedene chemische Bindungsfähigkeit (vielleicht durch Nebenvalenzen) zurückzuführen sein.

Nach einer neuerdings von F. Fischer[3]) vertretenen Ansicht stehen die natürlichen Huminsäuren in enger Verwandtschaft zum Lignin, indem sie sein erstes Abwandlungsprodukt auf dem Wege zur Kohle darstellen, während die Zellulose der bakteriellen Zerstörung anheimfällt.

---

[1]) Berthelot und G. André, Ann. de Chim. et de Phys. 6, 25, 364. 1892.

[2]) Sven Odèn, Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. 45, 651 (1912); Kolloidchem. Beih. 11, 76. 1919.

[3]) F. Fischer, Zeitschr. f. angew. Chemie (Aufsatzteil) 34, 217. 1921. Brennstoffchemie 2, 37 (1921).

Da diese Beziehungen über den Rahmen der hier mitgeteilten Experimentalarbeit hinausgreifen, mögen die kurzen Andeutungen genügen.

Die Forschung steht vor der Aufgabe, das Lignin nicht nur konstitutionell aufzuklären, sondern auch seine natürliche Geschichte zu verfolgen, rückwärts[1]) seine Entstehung in der lebenden Pflanze, vorwärts sein Schicksal und seine chemischen Wandlungen in der abgestorbenen Pflanze, deren übrige Bestandteile es fast allein, zuletzt in der Form der Kohle überdauert.

Berlin-Dahlem, den 10. Juni 1921.

## Nachschrift.

Während der Drucklegung dieser Veröffentlichung sind Einwendungen gegen die Lignintheorie F. Fischers bereits von zwei Seiten erfolgt. H. W. Klever, Zeitschr. f. angew. Chemie 34 (Aufsatzteil), 277. 1921, stützt sich auf den Befund, daß gerade Huminsäuren bei der Teerdestillation fast kein Phenol liefern. K. G. Jonas, Zeitschr. f. angew. Chemie 34 (Aufsatzteil), 289. 1921, bestreitet einerseits die Bildung von Huminsubstanzen aus dem Lignin, andererseits die aromatische Natur sowohl des Lignins als auch des Humus. Eine wesentliche Klärung der Frage können wir in beiden Einwänden nicht erblicken. Jedenfalls sprechen viele chemische und biochemische Tatsachen für eine größere Widerstandsfähigkeit des Lignins im Vergleich zur Zellulose, die Ergebnisse der Druckoxydation für eine aromatische Struktur des Lignins. — Es mag noch erlaubt sein, die Vermutung auszusprechen, daß zwischen Lignin, Flechtenstoffen, Gerbstoffen, Holz- und Blütenfarben eine bestimmte chemische Verwandtschaft besteht, und die Pflanze imstande ist, aus einer Grundsubstanz des Kambialsaftes die funktionell verschiedensten Stoffe zu liefern. Tatsächlich ist es auffällig, wie häufig in all diesen Gebieten der Pyron- bzw. Flavonkern, sowie der Chinontypus als bewiesen oder vermutet wiederkehren und wie häufig Protokatechusäure und ähnliche Verbindungen als Abbauprodukte erscheinen. Neben der Chemie der Kohlehydrate scheint sich hier ein anderes großes Gebiet der Pflanzenchemie zusammenzuschließen, für welches die Forschung über kurz oder lang die bisher fehlenden, verbindenden, einheitlichen Gesichtspunkte finden wird.

Berlin-Dahlem, den 2. Juli 1921.

Die Verfasser.

---

[1]) Vgl. H. Wislicenus, Kolloid-Zeitschr. 6, 17, 87. 1910; 27, 209. 1920.

## Zur Kenntnis der Carboligase.

### II. Mitteilung.

Von

**Carl Neuberg und Ludwig Liebermann.**

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Unter der großen Klasse spaltender Enzyme nehmen die Fermente der Zymasegruppe eine Sonderstellung ein. Alle jene anderen biochemischen Katalysatoren, die auf Ester, Glukoside oder Vertreter der Eiweißreihe höherer und niederer Ordnung abgestimmt sind, heben die Bindung zwischen Kohlenstoff- und Sauerstoffatomen oder zwischen Kohlenstoff- und Stickstoffatomen auf, wie sie eben in den genannten Substanzen vom Charakter der Ester, Äther oder Säureamide vorliegt. Die Gärungsfermente zersprengen dagegen Kohlenstoffketten, was vom Verhalten der Zymase und Carboxylase her wohl bekannt ist. Dieser Unterschied erscheint als ein grundsätzlicher insofern, als Hydrolysen der erstgenannten Art auch durch einfache chemische Mittel, wie durch Säuren oder Alkalien, leicht und im selben Sinne bewerkstelligt werden können, während die Zerreißung von Verbindungen mit fortlaufender Kohlenstoffkette im Reagensglase zumeist gewaltsame Eingriffe verlangt und beispielsweise beim Zucker sich künstlich nicht in der Richtung herbeiführen läßt, welche die alkoholische Gärung einschlägt. Mit jener ungleichen Betätigungsweise hängt es auch zusammen, daß hinsichtlich einer Umkehr der Zerlegung, der sogenannten synthetisierenden Leistung der Fermente, für beide Kategorien ganz wesentliche Differenzen bestehen. Durch Verschiebung des Gleichgewichts können Esterasen, Glukosidasen sowie Proteasen die aus Molekülverbänden abgespaltenen Bestandteile wieder zum Ausgangsmaterial oder zu nahe verwandten Körpern zusammenschweißen. Sie wirken anhydrisierend zwischen

Hydroxylgruppen oder zwischen je einem Hydroxyl- und einem Amidrest. Im Gegensatz zu diesem, auch mit rein chemischen Methoden erreichbaren Erfolge hat sich bisher eine Rückläufigkeit bei den Gärungsfermenten nicht nachweisen lassen. Kohlensäure und Äthylalkohol treten wohl in praxi deswegen nicht wieder zu Zucker zusammen, weil die Zahl der Durchgangsstufen zwischen Ausgangs- und Endprodukt beträchtlicher ist.

Bei dieser Sachlage war es nun von großem Interesse, Kohlenstoffketten knüpfenden Fermenten nachzuspüren. Denn der Aneinanderreihung von Verbindungen an ihren C-Atomen, den Kernsynthesen, kommt in der Natur eine besondere Bedeutung zu, ja man kann sagen, daß das gesamte organische Leben unseres Planeten in letzter Linie auf einer solchen Verwendung des von den Pflanzen assimilierten Kohlendioxyds beruht; und so ist uns die Erscheinung als Gesamtleistung lebender Organismen seit langem geläufig. Als isolierter und im einzelnen verfolgbarer enzymatischer Prozeß war sie bis vor kurzem jedoch unbekannt. Über den ersten Vorgang solcher Art haben vor kurzem C. Neuberg und J. Hirsch berichtet[1]). Die genannten Autoren wiesen in der Hefe, dem Fundorte so vieler Fermente, ein Kohlenstoffketten knüpfendes Ferment nach und benannten es Carboligase. Neuberg und Hirsch haben gezeigt, daß bei Zugabe von Benzaldehyd zu einer gärenden Lösung von Zucker oder Brenztraubensäure ein Teil des Bittermandelöls mit dem bei der Zuckerspaltung intermediär entstehenden Acetaldehyd zusammentritt unter Bildung eines Ketonalkohols, für den die Formel

$$\text{I. } C_6H_5 \cdot CO \cdot CHOH \cdot CH_3 \text{ oder II. } C_6H_5 \cdot CHOH \cdot CO \cdot CH_3$$

in Betracht kommt. Nach noch unveröffentlichten Versuchen von C. Neuberg und H. Ohle ist die Formel II anzunehmen. Das Bemerkenswerte an der Carboligasetätigkeit ist nun in folgendem gelegen:

1. Das Ferment stellt, ohne daß dabei eine Oxydation oder Reduktion eingreift, eine Verbindung zwischen C-Atomen zweier verschiedener Stoffe her, die sich freiwillig nicht vereinigen.

2. Die Reaktion führt zu einem Ketonalkohol, hat also einen Gang, der bei Beteiligung eines Aldehyds der aliphatischen Reihe in vitro nicht üblich ist. Denn wenn zwischen Benzaldehyd

[1]) C. Neuberg und J. Hirsch, diese Zeitschr. 115, 282. 1921.

und Acetaldehyd mit rein chemischen Mitteln eine Kondensation erzwungen wird, so nimmt sie den gewöhnlichen Verlauf, indem das als Primärprodukt anzusprechende Aldol unter Wasseraustritt den ungesättigten Aldehyd, im genannten Falle den Zimmtaldehyd, ergibt.

3. Die Umsetzung, die als biochemisch durch das starke optische Drehungsvermögen ihres Erzeugnisses gekennzeichnet ist, hat einen Zusammenhang mit der Gärung. Das folgt daraus, daß Benzaldehyd und fertiger Acetaldehyd sich durch Hefeferment nicht zusammenschließen lassen, sondern daß für die Acetaldehydkomponente der status nascens erforderlich erscheint, indem die Acetaldehyd liefernde Vergärung von Zucker oder Brenztraubensäure gleichzeitig ablaufen muß. Möglicherweise ist eine im Entstehungszustande reaktionsbereitere Form des Acetaldehyds oder eine Abhängigkeit von dem herrschenden energetischen Zustande für dieses Verhalten maßgebend.

Wie die genannten Autoren bereits hervorgehoben haben, unterscheidet sich durch die Mehrzahl dieser Punkte die Carboligasewirkung zugleich von der Cyanhydrinreaktion, der Aufnahme von Blausäure durch Aldehyde und Ketone. Auf diesen von selbst sich vollziehenden Vorgang nimmt gleich einer Reihe chemisch definierter Substanzen auch das Emulsin eine Einwirkung. Ferner ähneln Ablösung und Addition von HCN bei den cyanogenen Fermenten in mancher Richtung einfachen chemischen Umsetzungen, indem sie genau wie diese durch Säuren und Alkalien, ja selbst durch warmes Wasser beeinflußt werden können. Die Oxynitrile haben überhaupt nicht den Charakter eigentlicher fester Kohlenstoff-Kohlenstoffverbindungen, sondern mehr die Eigenschaft von Anlagerungsgebilden zwischen Carbonylsubstanzen und Blausäure, vergleichbar denen, die mit Ammoniak, Alkoholen, Sulfiten, Halogenwasserstoffsäuren, Eisen- und Kobalticyanwasserstoff usw. bekanntlich entstehen. Den von Neuberg und Hirsch hervorgehobenen Argumenten, die für die Beurteilung dieser Spaltung und Bildung von Cyanhydrinen zu würdigen sind, reihen sich weitere jüngst von V. H. Krieble und W. A. Wiland[1]) sowie besonders von E. Nordefeldt[2]) dargelegte Gesichtspunkte an; gemäß den Ausführungen des letzteren soll das Syn-Emulsin nicht existieren und eine Anteilnahme des Ferments an der Cyanhydrinbildung zweifelhaft erscheinen[3]).

Da somit die Carboligasewirkung bisher als der einzige Fermentprozeß gelten darf, durch den fermentsynthetisch wirkliche Kohlenstoffketten unmittelbar aufgebaut werden, so war ein

[1]) V. H. Krieble und W. A. Wiland, Chem. Centralbl. 1921. I. 777.

[2]) E. Nordefeldt, diese Zeitschr. 118, 15. 1921.

[3]) Vgl. auch C. Oppenheimer, Die Fermente 1913, S. 241.

fortgesetztes Studium der Carboligase geboten. Wir untersuchten zunächst ihr Verhalten gegenüber dem o-Chlorbenzaldehyd. Absichtlich wurde eine sicherlich „körperfremde“ Substanz gewählt. Denn für den gewöhnlichen Benzaldehyd darf man wohl die Möglichkeit eines Zusammentreffens mit Hefen in der Natur zugeben. Das am häufigsten Bittermandelöl liefernde Glucosid, das Amygdalin, kommt in Vegetabilien vor, auf denen Hefen leben, und so nimmt es auch nicht Wunder, daß nach Untersuchungen von Henry und Auld[1]) sowie Neuberg und Färber[2]) obergärige und untergärige Heferassen ein auf die Spaltung von Amygdalin gerichtetes Enzym enthalten. Auch davon abgesehen, hängt der Benzaldehyd über Phenylalanin, Benzoesäure, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Mandelsäure, Zimmtaldehyd mit verschiedenen Naturstoffen zusammen. Dagegen ist der o-Chlorbenzaldehyd als eine den Organismen fernstehende Verbindung anzusprechen. Die Bedeutung, die man der Carboligasetätigkeit zuerkennen will, steigt, wenn sie sich auch auf ein ungewohntes Substrat erstreckt und sich damit von allgemeinerer Verbreitung erweist.

In der Tat verhält sich der o-Chlorbenzaldehyd, $C_6H_4Cl \cdot CHO$, dem nicht halogenisierten Stammkörper analog. Genau wie der Benzaldehyd durch phytochemische Reduktion beträchtliche Mengen Benzylalkohol beim Zusammenbringen mit gärenden Zuckerlösungen liefert, so entsteht aus dem o-Chlorbenzaldehyd der schön krystallisierte o-Chlorbenzylalkohol, $C_6H_4Cl \cdot CH_2OH$. Er ist hier zum ersten Male auf biochemischem Wege erhalten worden. Ferner tritt die zugehörige Säure, die o-Chlorbenzoesäure, $C_6H_4Cl \cdot COOH$, auf und auch der erwartete chlorierte Ketonalkohol, dem wir in Anlehnung an die Konstitution der entsprechenden, aus Benzaldehyd hervorgehenden Verbindung die Formel $C_6H_4Cl \cdot CHOH \cdot CO \cdot CH_3$ zuerteilen.

Der größeren Giftigkeit des o-Chlorbenzaldehyds zufolge gelingt die biochemische Synthese schwieriger. Die Ausbeute ist geringer, ein Teil des o-Chlorbenzaldehyds bleibt unangegriffen, und es eignen sich nur widerstandsfähige Heferassen für die Digestion mit dem o-Chlorbenzaldehyd, dessen Konzentration im Gärgemisch am besten 0,3% nicht übersteigt.

---

[1]) Th. A. Henry und S. J. M. Auld, Chem. Centralbl. 1905. II. 1812.

[2]) C. Neuberg und E. Färber, diese Zeitschr. 78, 264. 1917.

Das vornehmlich interessierende Produkt der Synthese hat wiederum benzoinartigen Bau. Es ist ausgezeichnet durch sein starkes Reduktionsvermögen gegenüber Fehlingscher Mischung, das schon bei Zimmertemperatur zutage tritt. Charakterisiert wurde der chlorhaltige Ketonalkohol durch sein Thiosemicarbazon sowie durch sein p-Nitrophenylosazon. Das Thiosemicarbazon war bei der gewählten Arbeitsweise (Erhitzen der Komponenten) optisch inaktiv, während das Ausgangsmaterial stark linksdrehend gewesen war. Man muß mit der Möglichkeit rechnen, daß über die Di-enol-form $C_6H_4Cl \cdot C(OH): C(OH) \cdot CH_3$ eine Racemisierung eintritt.

Die Analysen der Derivate lassen keinen Zweifel daran, daß in formeller Hinsicht der chlorierte Ketonalkohol sich aus je einem Molekül Acetaldehyd und o-Chlorbenzaldehyd zusammenfügt, daß somit eine echte Carboligasewirkung vorliegt. Das ist auch durch Ausführung der Kernsynthese mit einer Fermentlösung bestätigt worden.

Weiter sei noch bemerkt, daß beim Anisaldehyd (p-Methoxybenzaldehyd) gleichfalls ein biochemischer Aufbau des entsprechenden Ketonalkohols durch das hervorstechende Reduktionsvermögen und durch die Isolierung des p-Nitrophenylosazons konstatiert werden konnte.

## Experimentelle Belege.

### I.

In Vorversuchen wurde folgendes ermittelt:

Traubenzucker in Form von Stärkesirup und Rohrzucker geben unter sonst gleichen Bedingungen dieselben Ergebnisse; infolgedessen wurde zu fast allen Versuchen der billigere Sirup verwendet, der einen Zuckergehalt von ziemlich genau 80% besaß. Am besten verliefen die Reaktionen, wenn in den Gärungsgemischen 4% Zucker vorhanden waren. Bei Wahl der Heferassen hat man der Toxizität des o-Chlorbenzaldehyds Rechnung zu tragen. Während der untergärige Stamm der Schultheiß-Brauerei in Berlin versagte, waren die obergärigen Sorten M und XII des Berliner Instituts für Gärungsgewerbe geeignet; am besten verlief jedoch die Umsetzung mit Hefe der Brauerei Engelhardt.

Die o-Chlorbenzaldehyd-konzentration war mit Rücksicht auf möglichst bequeme Aufarbeitung so hoch wie irgend tunlich zu wählen, doch konnten wegen der Giftwirkung auf die Hefe nur

Konzentrationen von 0,26—0,52% angewendet werden. Am vorteilhaftesten wurde ein Gehalt von 0,31% befunden, der daher in allen späteren Versuchen hergestellt wurde. Flüssiger o-Chlorbenzaldehyd (er erstarrt in reinem Zustande bei —4°) wird am besten in 3 bis 4 Portionen in je halbstündigem Abstand zu der in Gärung befindlichen Maische gefügt. Die Kohlendioxydentwicklung läßt bei jedem Chlorbenzaldehydzusatz erheblich nach oder hört vollkommen auf, um sich freilich langsam wieder einzustellen. Eine Schädigung der Hefe ist jedoch während des ganzen Gärverlaufs deutlich zu erkennen. Nach mannigfachen Variationen gingen wir so vor, daß wir die Gärung mit etwa zehnmal so viel Hefe einleiteten, als Aldehyd angewendet werden sollte, und nach 48 Stunden noch einmal das gleiche Quantum nachgaben. Setzt man die gesamte Hefe auf einmal hinzu, so verläuft die Gärung zwar schneller, doch bleibt ein größerer Anteil des o-Chlorbenzaldehyds unverändert.

Die Wahl der Temperatur beeinflußt den Ablauf der Gärung nicht unwesentlich. Die Lähmung der Hefe ist so stark, daß sie bei zu niedrigen Wärmegraden keine Umsetzung mehr auslöst; ebenso ist eine hohe Temperatur von etwa 40° unangebracht. Am günstigsten erwies sich die Digestion im Wärmeschrank bei 35°.

Die Bebrütung ist so lange fortzusetzen, bis ein erneuter Zusatz von frischer Hefe keine weitere Kohlendioxydentwicklung mehr hervorruft. Die Durchschnittsdauer betrug 5 Tage. Der Geruch nach o-Chlorbenzaldehyd war in dieser Zeitspanne nicht verschwunden, da, wie bereits erwähnt, das chlorierte Material zum Teil unangegriffen blieb.

Ausführung der Vergärung. Auf Grund der Vorversuche wurden folgende Verhältnisse gewählt: 750 g Stärkesirup wurden in Wasser von 35° gelöst und mit 600 g der erwähnten Hefe unter Herstellung eines Volumens von 15 Litern versetzt. 20 Minuten nach Beginn der Gärung ließ man aus einer Pipette langsam und unter starkem Schütteln 15 ccm frisch destillierten o-Chlorbenzaldehyd zufließen und wiederholte noch zweimal die Zugabe der gleichen Aldehydmenge jeweils nach Ablauf einer halben Stunde. Das Gärgefäß, eine 20 Literflasche, kam darauf in einen Thermostaten von 35° und wurde häufig und gründlich durchgeschüttelt. Nach 2 Tagen wurde die zweite Hefenportion von wiederum 600 g zugefügt. Nach weiteren 48 Stunden war die Umsetzung beendet.

Das Gärgut wurde nun durch Filtration von der Hefe befreit und in Anteilen so lange mit Äther ausgezogen, bis beim Verdampfen einer Probe der Extraktionsflüssigkeit praktisch kein Rückstand mehr hinterblieb. Hierzu waren im allgemeinen vier Ausschüttelungen mit dem halben Volumen Äther erforderlich. Die vereinigten ätherischen Portionen wurden bis auf etwa 100 ccm abdestilliert und dann zur Entfernung von mitextrahiertem Weingeist mit Wasser ausgeschüttelt. Die übriggebliebene ätherische Öllösung wurde darauf gründlich über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und hinterließ nach Abtreiben des Äthers ein gelbes Liquidum. Bei Verarbeitung von 13 Litern (des ursprünglich 15 Liter betragenden Gärgutes) wurden 19 g Öl erhalten.

Die wässerige Schicht reduzierte Fehlingsche Lösung in der Wärme, weil der Zuckersirup unvergärbare, mit Fehlingscher Lösung reagierende Bestandteile enthielt. Bei einem unter gleichen Bedingungen angesetzten Versuch mit Rohrzucker war dagegen kein Reduktionsvermögen des ausgeätherten wässerigen Anteils mehr vorhanden.

Das Rohöl wies folgende Eigenschaften auf:

1. Es roch noch deutlich nach o-Chlorbenzaldehyd und gab dementsprechend mit fuchsin-schwefliger Säure schnell die bekannte Probe.

2. Nach Entfernung der letzten Reste des Lösungsmittels (im Vakuum) schieden sich von selber oder beim Reiben, besonders auch beim Abkühlen, weiße Krystalle ab, die sich als o-Chlorbenzylalkohol erwiesen.

3. Auf feuchtes blaues Lackmuspapier gebracht, erzeugte das Öl Rotfärbung, und zwar infolge eines Gehaltes an o-Chlorbenzoesäure.

4. Eine ammoniakalisch-alkalische Silberlösung wurde augenblicklich in der Kälte reduziert. Diese Eigenschaft kommt nicht dem o-Chlorbenzaldehyd zu, sondern dem neuen Ketonalkohol.

5. Auf diesen ist auch die Einwirkung von Fehlingscher Mischung zu beziehen. Löst man einige Tropfen des Öles in wenig Alkohol und setzt die gleiche Menge Fehlingscher Flüssigkeit nebst so viel Wasser hinzu, daß beim Umschütteln keine Schichtenbildung eintritt, so schlägt die Farbe sofort in grün und nach $1^1/_2$—2 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur in gelb um; nach einigem Stehen setzt sich Kupferoxydul ab. In dieser Weise an-

gestellt, ist die Reaktion scharf und fällt noch mit 0,1 ccm des Rohöles deutlich positiv aus.

6. Eine kleine Menge des Öles wird mit etwas Alkohol, ferner mit wenigen Tropfen einer verdünnten Nitroprussidnatriumlösung und alsdann mit Natronlauge versetzt. Es erfolgt eine bräunliche Färbung, die auf Zusatz von Essigsäure in violettblau umschlägt. Nimmt man an Stelle von Natronlauge Piperidin, so färbt sich die Lösung sofort enzianblau, um beim Ansäuern mit Essigsäure einen stahlblauen Ton anzunehmen. Die Benutzung von Ammoniak als alkalischem Bestandteil führt zu keiner Farbenreaktion.

7. 0,5 ccm Rohöl in 10 ccm Alkohol gelöst, drehten die Ebene des polarisierten Lichtes stark nach links und zwar im 2-dcm-Rohr = — 1,65°.

Die Aufteilung des Rohöles gelang nicht mittels direkter fraktionierter Destillation. Bei 14 mm Druck begann das Öl bei 80° zu sieden und es gingen ohne erkennbare Absätze dabei Anteile bis zu 170° über. Bei willkürlicher Unterbrechung findet man unveränderten Chlorbenzaldehyd, Chlorbenzylalkohol und den Ketonalkohol nebeneinander; scheinbar handelt es sich um die Destillation der verschiedenen Bestandteile im Dampfe der einen Komponente oder mehrerer. Zum Ziel aber kommt man, wenn man den auskrystallisierbaren Anteil des Chlorbenzylalkohols durch Ausfrieren möglichst beseitigt. Mit dem beim scharfen Absaugen übrig bleibenden Öle war zunächst auch noch keine Trennung durch Rektifikation durchführbar. Es wurde daher zuförderst in zwei Fraktionen zerlegt, die bei 12 mm Druck zwischen 90 und 155° und zwischen 156 bis 170° sotten. Nunmehr ließ sich die erste Portion (I) durch erneute Fraktionierung in die Anteile vom Siedepunkte 90 bis 130° und 131 bis 155° zerlegen. Der erstere (Ia) reagierte nur noch ganz schwach mit Fehlingscher Lösung, während der andere (Ib) durch fuchsin-schweflige Säure nicht mehr gerötet wurde. Aus diesen beiden Fraktionen ließen sich dann zwei Hauptbestandteile, und zwar o-Chlorbenzaldehyd aus Ia und der Ketonalkohol aus Ib, in Form analysenreiner Derivate isolieren.

Untersuchung des ausgefrorenen Bestandteiles. Die abgesaugten Krystalle erwiesen sich als unlöslich in Wasser und Sodalösung, dagegen wurden sie von Alkohol und Äther sowie heißem Ligroin aufgenommen. Am Kupferdraht in die nicht leuchtende Flamme eines Bunsenbrenners gebracht, erteilen sie

dieser die für die Anwesenheit von Halogen charakteristische Grünfärbung. Nach Umkrystallisation aus Toluol lag der Schmelzpunkt bei 71°, und auch alle übrigen Eigenschaften stimmten mit denen von o-Chlorbenzylalkohol überein.

Untersuchung der Fraktion Ia. 3,5 g der noch deutlich nach o-Chlorbenzaldehyd riechenden und mit einzelnen Krystallen nachträglich auskrystallisierten o-Chlorbenzylalkohols durchsetzten Fraktion Ia wurden in wenig Alkohol aufgenommen und langsam und unter Umrühren in eine essigsauer-alkoholische Lösung von p-Nitrophenylhydrazin eingegossen. Es bildete sich schon in der Kälte ein orangefarbener Niederschlag, der nacheinander mit Alkohol und Äther gewaschen wurde und sich als chlorhaltig erwies. Die Substanz ließ sich aus Toluol umkrystallisieren. Der Stickstoffgehalt zeigte, daß es sich um das p-Nitrophenylhydrazon des o-Chlorbenzaldehyds handelte.

0,1303 g Substanz: 18,0 ccm N (23°, 751 mm).

$C_{13}H_{10}N_3O_2Cl$. Ber. N = 15,25%; gef. N = 15,31%.

Das bisher allem Anscheine nach unbekannte p-Nitrophenylhydrazon wurde auf die gleiche Weise aus reinem o-Chlorbenzaldehyd dargestellt. Es schmolz dann (bei raschem Erhitzen) bei 245°, genau wie das Produkt aus der Fraktion Ia. Auch für ihr Gemisch war keine Schmelzpunktsdepression zu bemerken. Bei Fällung in der Kälte gesellt sich dem Hydrazon des unveränderten o-Chlorbenzaldehyds das Osazon des Ketonalkohols, das im folgenden beschrieben wird, nicht bei, da dieses erst in der Wärme entsteht.

**Nachweis des durch biochemische Synthese gebildeten Ketonalkohols.**

a) Darstellung des p-Nitrophenylosazons.

Aus der Fraktion Ib, die wie erwähnt, praktisch frei vom Ausgangsmaterial ist, erhält man das Osazon des carboligatisch erzeugten Produktes folgendermaßen:

3 g wurden mit etwas Sprit sowie mit 7 g p-Nitrophenylhydrazin, die in verdünnter alkoholischer Essigsäure gelöst waren, 4 Stunden lang auf dem Wasserbade unter Rückfluß gekocht. Dabei bildeten sich rötliche Flocken, die noch heiß abfiltriert und mit Weingeist ausgewaschen wurden. Die Substanz, die in Alkohol, Äther und Essigsäure kaum oder gar nicht löslich war, ging bei gelindem Erwärmen leicht in Nitrobenzol und Pyridin über und

wurde aus der Pyridinlösung durch verdünnte Essigsäure gefällt. Die Verbindung ließ sich aus einem Gemisch von 1 Teil Eisessig und 2 Teilen Nitrobenzol umkrystallisieren; sie zeigte dann im rasch geheizten Paraffinbade (Temperatursteigerung 10° in 25″) einen Schmelzpunkt von 302—303° und bestand aus häufig zu Büscheln vereinigten scharlachroten Nädelchen.

0,1160 g Substanz: 18,5 ccm N (19°, 762 mm).
0,1528 g Substanz: 0,0458 g AgCl.
$C_{21}H_{17}N_6O_4Cl$. Ber. N = 18,57%, Cl = 7,83%;
gef. N = 18,55%, Cl = 7,47%.

Die Analysenzahlen stimmen vollkommen auf das Osazon

$$\begin{array}{c} C_6H_4Cl - C - C - CH_3 \\ \qquad\quad \| \quad\;\; \| \\ (NO_2)C_6H_4 \cdot HN \cdot N \quad N \cdot NH \cdot C_6H_4(NO_2) \end{array}$$

der benzoinartigen Kondensationsverbindung von o-Chlorbenzaldehyd mit Acetaldehyd, der selbst aus Analogiegründen die Konstitution des Methyl-o-chlor-α-oxy-benzylketons oder nach Beilsteins Nomenklatur die des o-Chlor-1-oxy-2-oxo-propylbenzols zuzusprechen ist (s. vorher).

b) Darstellung des Thiosemicarbazons.

$$C_6H_4Cl \cdot CHOH \cdot C(: N \cdot NH \cdot CS \cdot NH_2) \cdot CH_3$$

Während das p-Nitrophenylosazon nicht mehr das unveränderte Molekül des Ketonalkohols enthält, sondern sich infolge der Osazonreaktion vom zugehörigen Diketon ableitet, kann man mit Thiosemicarbazid leicht ein schön krystallisierendes Derivat des Ketonalkohols selbst erhalten. Zu diesem Zwecke wurden 3,2 g der Fraktion Ib mit 10 ccm Alkohol aufgenommen und in eine heiße Lösung von 3 g Thiosemicarbazid in 50 g Wasser eingetragen. Die Mischung wurde durch sich absonderndes Öl trübe und noch $1^1/_2$ Stunden im Kochen erhalten. Nach dem Erkalten filtrierte man die halbfeste Masse ab, wusch sie zur Entfernung anhaftenden Chlorbenzylalkohols mit kaltem Alkohol und dann zur Beseitigung etwa beigemengten Thiosemicarbazids mit heißem Wasser. Nunmehr blieb auf dem Filter eine weiße krystallinische Substanz zurück, die nach dem Trocknen 2 g wog. Zur Reinigung wurde die Verbindung aus heißem Weingeist umkrystallisiert, in dem sie ziemlich schwer löslich war und von dem ungefähr 600 ccm benötigt wurden. Aus der alkoholischen Lösung

schied sich das Thiosemicarbazon im Verlaufe eines Tages in analysenreiner Form und in einer Ausbeute von 1,4 g direkt ab. (Die Mutterlaugen wurden nicht verarbeitet.) Die Verbindung schmolz bei 216—218° unter Zersetzung. Sie bildet flache Nädelchen und ist nicht oder schwer löslich in Wasser, Äther, kaltem Alkohol sowie Essigester; ziemlich leicht löst sie sich in heißem Pyridin. Die alkoholische Lösung der Substanz gibt mit $AgNO_3$ und $HgCl_2$ typische Niederschläge[1]). Da sie, wie soeben beschrieben, durch längeres Erhitzen auf 100° dargestellt wurde, zeigte sie keine optische Aktivität mehr (vgl. S. 315).

0,1606 g Substanz: 23,4 ccm N (23°, 751 mm).
0,2107 g Substanz: 0,1886 g $BaSO_4$.
0,2194 g Substanz: 0,1214 g AgCl und 0,1951 g $BaSO_4$.
$C_{10}H_{12}N_3OClS$. Ber.: N = 16,31%, Cl = 13,78%, S = 12,32%.
Gef.: N = 16,32%, Cl = 13,69%, S = 12,29%;
S = 12,21%.

Unzweifelhaft liegt das reine Thiosemicarbazon des chlorierten Ketonalkohols vor.

### Nachweis von o-Chlorbenzoesäure.

Eine in Äther aufgenommene Probe des Rohöles wurde mit Natriumbicarbonatlösung mehrmals ausgeschüttelt. Die wässerig-alkalische Schicht wurde sodann mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels blieb ein gelblich gefärbter Krystallkuchen zurück, der auf Ton abgepreßt und dann aus möglichst wenig heißem Wasser unter Zugabe von Tierkohle umkrystallisiert wurde. Wir erhielten dann glänzend weiße Nadeln, die bei 138° wie reine o-Chlorbenzoesäure sich verflüssigten.

### Quantitative Untersuchung des Rohöles.

Da es mit Hilfe der fraktionierten Vakuumdestillation nicht gelang, auch bei Wiederholung eines solchen Vorgehens eine Aufteilung zu erzielen, so mußte ein anderer Weg eingeschlagen werden. Die qualitative Untersuchung hatte gelehrt, daß der Siedepunkt des o-Chlorbenzylalkohols zwischen dem des Aldehyds und dem des Ketons liegt. In der Hoffnung, wenigstens die beiden Carbonylverbindungen von den übrigen Reaktionsprodukten durch Behandlung mit Bisulfit abtrennen zu können, wurde das Rohöl

[1]) C. Neuberg und W. Neimann, B. 35, 2049. 1902.

mit 15, 25 und 40 prozentigem Natriumbisulfit ausgeschüttelt. Die Menge des sauren schwefligsauren Natriums wurde so bemessen, daß sie ausreichend war, selbst wenn das gesamte Rohöl aus Oxokörpern bestand. Das Öl wurde in so viel Äther gelöst, daß das Volumen ungefähr dem der angewandten Sulfitlösung gleich war. Nach halbstündiger Extraktion mit 15 proz. Bisulfitlösung war unveränderter o-Chlorbenzaldehyd quantitativ entfernt. Dagegen war der Ketonalkohol nicht mit ausgezogen[1]); dies war ohne weiteres an dem starken Reduktionsvermögen des im Äther gelöst gebliebenen Öles zu erkennen. Auch bei erneuter Einwirkung nahm Bisulfit keine nennenswerten Mengen Ketonalkohol auf. Bei vielstündiger, andauernder Schüttelung mit ganz konzentrierter Bisulfitlösung wurde nur ein geringer Anteil des Ketonalkohols umgesetzt.

Deshalb wurde folgender Weg für eine möglichst quantitative Aufteilung des Rohöles eingeschlagen:

α) Bestimmung von unverändertem o-Chlorbenzaldehyd.

16,7 g von Weingeist, Äther und Wasser befreiten Rohöles wurden wiederum in 80 ccm Äther gelöst und mit 80 ccm 15 proz. Bisulfitlösung $^1/_2$ Stunde lang durchgeschüttelt. Es bildete sich ein weißer Niederschlag, der auf Zusatz von Wasser in Lösung ging. Aus der wässerigen Bisulfitlauge wurde dann der o-Chlorbenzaldehyd durch Zugabe von Natriumbicarbonat in Freiheit gesetzt und mit Äther extrahiert. Dieser hinterließ beim Abdampfen 3,9 g eines gelben, mit Fehlingscher Mischung auch beim Aufkochen nicht mehr reagierenden Öles, aus dem in der vorher beschriebenen Weise 5,6 g reines, direkt auskristallisierendes o-Chlorbenzaldehyd-p-nitrophenylhydrazon isoliert werden konnten.

β) Bestimmung der o-Chlorbenzoesäure.

Nachdem die ätherische Lösung des Rohöles auf die angegebene Weise von unverändertem Ausgangsmaterial befreit worden war, wurde sie mehrmals mit 4 proz. Natriumbicarbonatlösung gründlich durchgeschüttelt. Aus der eingedampften

[1]) Über den sehr verschiedenen Umfang, in dem die Bisulfit-addition an Carbonylsubstanzen erfolgt, vgl. A. W. Stewart, Chem. Centralbl. 1905. I. 669.

wässerig-alkalischen Lösung konnten nach Ansäuerung durch Ausäthern 1,6 g o-Chlorbenzoesäure abgeschieden werden.

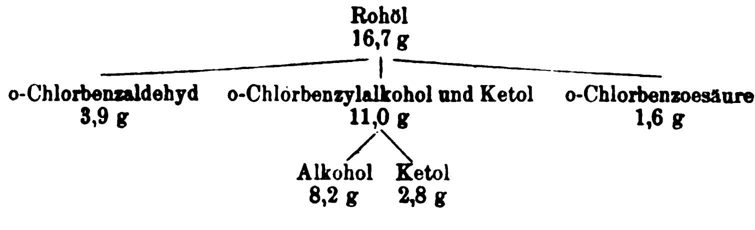
γ) Bestimmung des o-Chlorbenzylalkohols.

Die ätherische Lösung, die jetzt noch außer dem Ketol den o-Chlorbenzylalkohol enthielt, wurde über Natriumsulfat getrocknet und dann auf dem Wasserbade vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand, 11,0 g gelbes Öl, erstarrte in einer Kältemischung auf Animpfung oder beim Reiben zu einem dicken Krystallbrei, der in auf — 6 abgekühltem Petroläther suspendiert, dann abgesaugt und mit kaltem Petroläther ausgewaschen wurde. Die zurückbleibenden glänzend weißen Krystalle wogen nach Trocknung im Vakuumexsiccator 5,8 g. Die Entfernung des o-Chlorbenzylalkohols durch Ausfrieren gelingt nicht vollkommen. Ein weiterer Teil — 2,4 g — wurde durch das Ketol in Lösung gehalten und konnte erst nach dessen Entfernung (siehe unten) isoliert werden, so daß die Gesamtausbeute an o-Chlorbenzylalkohol sich auf 8,2 g bezifferte.

δ) Bestimmung des Ketonalkohols.

Die Mutterlauge des Chlorbenzylalkohols wurde vom Petroläther befreit und das hinterbliebene Öl, dessen Gewicht nunmehr 5,2 g ausmachte, in 150 ccm einer 4 proz. Lösung von Thiosemicarbazid in heißem Wasser eingetragen. Nach einstündigem Kochen war eine beträchtliche Menge eines öldurchtränkten Niederschlages entstanden, der nach Abkühlung mit 20 ccm kaltem Alkohol ausgewaschen und nach Entfernung der alkoholischen Lösung mit 100 ccm warmem Wasser digeriert wurde. Durch diese Behandlung mit Alkohol einerseits und Wasser andererseits wurde anhaftender o-Chlorbenzylalkohol und etwa beigemengtes Semicarbazid entfernt. Durch Umkrystallisieren aus viel heißem Alkohol wurde 3 g reines Thiosemicarbazon gewonnen. Die alkoholische sowie alkoholisch-wässerige Mutterlauge des Thiosemicarbazons wurde vom Alkohol befreit und mit Äther ausgeschüttelt, aus dem noch 2,4 g o-Chlorbenzylalkohol (s. vorher) in reinem Zustande erhalten wurden.

Den Verlauf und das Ergebnis der quantitativen Untersuchung erläutert die nachstehende schematische Übersicht nebst der zugehörigen Tabelle.




Als Gehalt des Rohöles ergab sich demnach:

| | |
|---|---|
| o-Chlorbenzylalkohol . . . . . . | 49,1% |
| o-Chlorbenzaldehyd . . . . . . . | 23,4 „ |
| bio-synthetisiertes Ketol . . . . . | 16,8 „ |
| o-Chlorbenzoesäure . . . . . . . . | 9,6 „ |
| Verlust war . . . . . . . . . . | 1,1 „ |
| | = 100,0%. |

Um uns zu vergewissern, daß der physiologische Aufbau des chlorierten Ketonalkohols auch vollständig enzymatisch vor sich geht, haben wir einen Versuch mit Hefenmacerationssaft gemäß den Angaben von Neuberg und Hirsch (l. c.) durchgeführt. Dabei mußte die Menge des o-Chlorbenzaldehyds, der gleichfalls die Fermentlösung schädigte, auf $^1/_3$ reduziert werden. Wir wiesen das o-Chlor-1-oxy-2-oxo-propyl-benzol durch sein Reduktionsvermögen in der Kälte und sein charakteristisches p-Nitrophenylosazon mit dem Schmelzpunkte 300—302° nach. Daraus folgt die rein carboligatische Bildungsweise des Chlor-ketonalkohols.

## II.

Einen weniger glatten Verlauf als mit dem o-Chlorbenzaldehyd hatten wir beim Anisaldehyd zu verzeichnen; wir begnügten uns damit, den Eintritt der Reaktion festzustellen und das Ketol lediglich als p-Nitrophenylosazon abzuscheiden.

190 g Sirup in 4 l Wasser wurden mit 150 g Hefe zur Angärung gebracht und mit 11 ccm Anisaldehyd anteilweise versetzt. Die zunächst abgestoppte Gärung setzte bei Zimmertemperatur (etwa 21°) jeweils nach $^1/_2$ Stunde wieder ein. Tags darauf kam das Gemisch nach Zufügung von 100 g frischer Hefe in den Brutschrank, wo sich während 72 Stunden eine regelmäßige Vergärung vollzog. Die übliche Aufarbeitung lieferte rund 9 g Rohöl, das schwach linksdrehend war und Fehlingsche Mischung bei ganz gelindem Anwärmen schußartig reduzierte.

Durch Behandlung mit p-Nitrophenylhydrazin in reichlich Alkohol enthaltender, essigsaurer Lösung entstand das Osazon, das heiß abfiltriert, mit Alkohol sowie Äther gewaschen und schließlich aus Nitrobenzol + Eisessig umkrystallisiert wurde. Leuchtend rote Krystalle vom Schmelzpunkt 266° (unkorr.).

Die Mikroanalysen, die wir Herrn A. Schoeller verdanken, lehren, daß die Verbindung

$$\begin{array}{c} CH_3 - \underset{\|}{C} - \underset{\|}{C} - C_6H_4(OCH_3) \\ (NO_2)H_4C_6 \cdot HN \cdot N \quad N \cdot NH \cdot C_6H_4(NO_2) \end{array}$$

vorlag.

3,080 mg: 6,610 mg $CO_2$ und 1,240 mg $H_2O$;
2,966 mg: 0,517 ccm N (26°, 721 mm).
$C_{22}H_{20}O_5N_6$. Ber. C = 58,93; H = 4,46; N = 18,74%;
gef. C = 58,53; H = 4,47; N = 18,77%.

---

Somit zeigt sich, daß die Wirksamkeit der Carboligase nicht auf die biochemische Verknüpfung von Benzaldehyd mit dem Molekül des Acetaldehyds beschränkt ist, sondern daß ein solcher „paariger Aufbau" längerer Kohlenstoffketten allgemeiner erfolgt. —

Die Untersuchungen sind durch die Gewährung von Mitteln ermöglicht worden, für deren Bewilligung wir dem Verwaltungs- und wissenschaftlichen Ausschuß der Zentralstelle für Öl- und Fettforschung besonders danken möchten.

# Über Glucose- und Rohrzucker-monoschwefelsäure. III.

Von

Carl Neuberg und Ludwig Liebermann.

(Aus der Chemischen Abteilung des Kaiser Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie in Berlin-Dahlem.)

Neben den Verbindungen von Zucker mit Phosphorsäure spielen auch die Schwefelsäureester der Kohlenhydrate in der Natur eine Rolle. Außer der altbekannten Chondroitinschwefelsäure, die von C. Th. Mörner, Schmiedeberg, Orgler und Neuberg, Fränkel, Kondo sowie in den letzten Jahren besonders erfolgreich von P. A. Levene und F. B La Forge untersucht worden ist, kommen ähnliche Kohlenhydratschwefelsäureester in verschiedenen Organen und Gewebssäften vor. Aus der Leber, aus Leukocyten, aus der Milchdrüse, der Milz, den Nieren, aus Pankreas und Sehnenmucin haben vor Jahren J. A. Mandel und P. A. Levene solche Zuckerschwefelsäuren isoliert; wennzwar die Konstitution aller dieser komplizierten Materialien im einzelnen noch unbekannt ist, so kann man doch vermuten, daß das Skelett auch dieser Substanzen von einer Schwefelsäureverbindung der Kohlenhydrate gebildet wird. In den sogenannten Sulfatiden (Thudichum, W. Koch, Levene), die mit den Phosphatiden und Lipoiden zusammen vorkommen, sind vielleicht analoge Grundbestandteile enthalten. Soweit bisher ersichtlich ist, entfällt bei den genannten Substanzen, genau wie bei den gewöhnlichen physiologisch wichtigen aromatischen Ätherschwefelsäuren, auf 1 Molekül der alkoholischen Paarlinge 1 Molekül des Schwefelsäurerestes.

Für die Darstellung einzelner Verbindungen dieses Typus haben Neuberg und Pollak[1]) früher ein Verfahren angegeben, das in Behandlung von Kohlenhydraten mit Kaliumpyrosulfat und Lauge

[1]) C. Neuberg und H. Pollak, diese Zeitschr. 26, 514. 1910; B. 43, 2060. 1910; dort auch die in Betracht kommende Literatur.

besteht. Selbstverständlich kann diese Reaktion nur mit nicht reduzierenden Zuckerarten oder mit Glucosiden durchgeführt werden, während sie bei freien Aldosen oder Ketosen versagt. Aus der neutralisierten Lösung fällt man alsdann mit Bariumacetat anorganisches Sulfat aus und scheidet darauf mit Bleiessig unter Zusatz von Ammoniak die Bleiverbindung der Rohrzuckerschwefelsäure ab. Aus dem basischen Bleisalz wird nunmehr mit Schwefelwasserstoff in Gegenwart von Calcium- oder Bariumcarbonat die Kohlenhydratschwefelsäure freigemacht und sofort an das Erdalkalimetall gebunden; mit Alkohol kann jetzt das Salz der Saccharoseschwefelsäure ausgefällt werden.

Um auch eine unmittelbare Sulfurylierung der reduzierenden Zucker erreichen zu können, mußte ein anderer Weg eingeschlagen werden. Nach Erfahrungen von A. Verley[1]) und E. Czapek[2]) eignet sich zur Darstellung von Ätherschwefelsäuren der aromatischen Reihe die Einwirkung von Chlorsulfonsäure in Gegenwart von Schwefelkohlenstoff bzw. von Chloroform auf die Pyridinlösung der Phenole. Diese Reaktion ist nicht auf diese Körperklasse beschränkt, wie Mandel und Neuberg[3]) am Beispiele des Cholesterins gezeigt haben. Nunmehr hat sich ergeben, daß sie auch auf die Polyhydroxylverbindungen vom Typus der Zuckerarten angewendet werden kann. Übrigens haben schon Neuberg und Pollak erwähnt, daß man bei Einwirkung von Chlorsulfonsäure und Sulfurylchlorid auf Zuckerarten zu Schwefelsäurederivaten gelangen kann[4]).

Löst oder suspendiert man Traubenzucker bzw. Rohrzucker und Lactose, die vorher sorgfältig getrocknet sein müssen, in wasserfreiem Pyridin und läßt unter guter Kühlung langsam eine Mischung von Chlorsulfonsäure mit reinem Chloroform eintropfen, so findet eine Umsetzung statt, deren Heftigkeit durch starke Kühlung zu mildern ist. Durch Abdestillieren von Pyridin und Chloroform sowie Behandlung des Rückstandes mit Wasser und kohlensaurem Kalk bzw. Calciumoxyd gewinnt man dann das Kalksalz

---

[1]) A. Verley, Chem. Centralbl. 1901. I. 313.

[2]) E. Czapek, Chem. Centralbl. 1914. I. 830.

[3]) J. A. Mandel und C. Neuberg, diese Zeitschr. 71, 186. 1915.

[4]) C. Neuberg und H. Pollak, diese Zeitschr. 23, 517. 1910; vgl. auch B. Helferich, B. 54, 1082. 1921, der mit $SO_2Cl_2$ interessante Dichlorhydrinsulfate der Methylglucoside erhalten hat.

des Kohlenhydratschwefelsäureesters, das zunächst noch Chlorcalcium sowie Spuren von Gips, ferner gelegentlich auch unveränderten Zucker enthält. Engt man die betreffenden Lösungen weitgehend ein, so gelingt es, mit viel Weingeist das Calciumsalz der Zuckerschwefelsäure niederzuschlagen, das durch mehrfaches Aufnehmen in möglichst wenig Wasser und Ausfällung mit reichlich absolutem Alkohol von den erwähnten Beimengungen befreit werden kann. Wenn man dafür Sorge trägt, daß bei der Sulfurylierung stets ein Überschuß von Zucker anwesend ist, so erhält man Mono-schwefelsäureester der Kohlenhydrate. Die Calciumsalze haben sämtlich die normale Zusammensetzung. Die Reaktion verläuft, wenn man von der intermediären Bindung der Chlorsulfonsäure an das Pyridin absieht, für den Traubenzucker im Sinne der Formulierung:

$$2\ C_6H_{12}O_6 + 2\ Cl \cdot SO_3H + 2\ CaCO_3 = (C_6H_{11}O_5 \cdot O \cdot SO_3)_2\ Ca + CaCl_2 + 2\ H_2O + 2\ CO_2$$

und für Saccharose entsprechend:

$$2\ C_{12}H_{22}O_{11} + 2\ Cl \cdot SO_3H + 2\ CaO = (C_{12}H_{21}O_{10} \cdot O \cdot SO_3)_2\ Ca + CaCl_2 + 2\ H_2O$$

Auf diese Weise ist zunächst das Calciumsalz der Glucoseschwefelsäure, der Rohrzuckerschwefelsäure und der Lactoseschwefelsäure dargestellt worden. Bislang war nur beabsichtigt, die Gangbarkeit dieses Weges zu erkunden, so daß es weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben muß, den Ort für den Eintritt des Schwefelsäurerestes festzustellen, die Einheitlichkeit der entstandenen Substanzen zu prüfen und krystallisierte Derivate zu bereiten. Aus der Glucoseschwefelsäure scheint übrigens bei sehr vorsichtiger Behandlung mit Phenylhydrazin eine schwefelhaltige Verbindung in Krystallen zu entstehen. Die Ausbeuten sind verbesserungsbedürftig.

## Experimentelles.

### a) Rohrzucker-schwefelsäure.

In einem vollkommen trockenen Literkolben löst man 16,4 g Rohrzucker mit 260 ccm frisch entwässertem Pyridin und kühlt unter sorgfältiger Fernhaltung von Feuchtigkeit auf — 10° ab. Aus einem Tropftrichter läßt man sodann das eisgekühlte Gemisch

von 2,6 ccm frisch destillierter Chlorsulfonsäure mit etwa 10 ccm rektifiziertem Chloroform äußerst langsam einfließen; jeder einfallende Tropfen reagiert unter Zischen. Die Zugabe ist so zu regeln, daß die Temperatur möglichst niedrig bleibt, jedenfalls nicht über 0° steigt. Das verschlossene Gefäß bleibt mehrere Stunden sich selbst überlassen. Dann wird im Vakuum höchstens bei einer Temperatur von 50° die Hauptmenge des Pyridins abgetrieben. Darauf löst man den Rückstand in etwa 250 ccm kaltem Wasser und gibt 5,0 g Calciumoxyd in Form von Kalkmilch hinzu; dadurch werden die in der Flüssigkeit vorhandenen Pyridinverbindungen zerlegt. Beim Eindampfen unter vermindertem Druck destilliert nunmehr alles Pyridin über. Der Kolbeninhalt wird soweit konzentriert, bis jeder Geruch nach Pyridin verschwunden ist, dann in 50 ccm Wasser aufgenommen und durch Einleiten von Kohlendioxyd von überschüssigem Ätzkalk befreit. Nach Filtration vom ausgefallenen Gips und Calciumcarbonat sowie gründlichem Auswaschen dieser Salze wird das Filtrat, das farblos sein oder, falls es einen schwach gelblichen Ton aufweist, mit Knochenkohle entfärbt werden muß, auf 10 ccm eingeengt. Diese Lösung läßt man dann unter kräftigem Umrühren tropfenweise in 1 l absoluten Alkohol einfließen. Es bildet sich ein weißer flockiger Niederschlag, der sich bei mehrstündigem Stehen noch vermehrt und absetzt. Er wird abgesaugt, mit Alkohol und Äther gewaschen. Nach Trocknung im Vakuum wiegt diese Substanz 17,2 g; sie enthält jedoch noch Calciumchlorid. Zur Befreiung davon wird sie drei- bis viermal in wenig Wasser aufgenommen und mit absolutem Alkohol niedergeschlagen. Durch diese Behandlung verringert sich die Ausbeute bei jeder Umfällung fast um etwa 50%; freilich lassen sich aus den Mutterlaugen durch Abdampfen des Sprits und erneute Fällung des Rückstandes mit wasserfreiem Alkohol noch 6,5 g fast chlorfreies Produkt isolieren.

In der durch viermalige Umlösung gereinigten Verbindung war weder anorganisches noch organisches Halogen oder Gips vorhanden; sie löste sich äußerst leicht in Wasser. Nach Trocknung im Vakuum über Phosphorpentoxyd muß man für den Körper die Zusammensetzung

$$(C_{12}H_{21}O_{10} \cdot O \cdot SO_3)_2Ca + 6\,H_2O = C_{24}H_{42}O_{28}S_2Ca + 6\,H_2O$$

annehmen.

Die anzuführenden Analysenzahlen zeigen, daß auf 1 Molekül Rohrzucker ein Schwefelsäurerest eingetreten ist und auf beide ein halbes Atom Calcium entfällt.

0,1884 g Substanz: 0,2101 g $CO_2$, 0,0888 g $H_2O$;
0,0877 g Substanz: 0,0049 g CaO;
0,2488 g Substanz: 0,1164 g $BaSO_4$.
$C_{24}H_{54}O_{24}S_2Ca$ (= 990):
Ber.: Ca = 4,04; S = 6,46; C = 29,11; H = 5,44%;
gef.: Ca = 4,00; S = 6,41; C = 30,41; H = 5,25%.

Die Analysen stimmen hinreichend auf das Saccharose-monosulfat.

Als erstmaliger Wert des Drehungsvermögens ergab sich:

$$[\alpha]_D^{19} = +48{,}0^\circ$$

$$(\alpha = +1{,}75^\circ, \quad c = 1{,}823, \quad l = 2).$$

Eine direkte Ermittelung der mutmaßlich vorhandenen Wassermenge ist nicht möglich gewesen, da sie im Vakuum nicht entwich und die Substanz bei längerem Erwärmen schon bei 70 bis 80° sich unter Sinterung gelb färbte.

Von Reaktionen des Kalksalzes seien folgende erwähnt: Da die Verbindung das unversehrte Molekül des Rohrzuckers enthält, verändert sie Fehling-Mischung nicht. Sie erlangt aber Reduktionsvermögen nach kurzer Behandlung mit verdünnter Salzsäure (Inversion der Saccharosekomponente). Bariumsalze, auch Bariumhydroxyd, Kupferacetat und Bleiacetat erzeugen in der gegen Lackmus neutral reagierenden Auflösung keine Fällungen, mit Bleiessig erfolgt Trübung und mit Bleiessig und Ammoniak ein starker Niederschlag. Mit Ammonoxalat scheidet sich oxalsaures Calcium ab. Während beim Erwärmen mit Mineralsäuren schnelle Abspaltung von Schwefelsäure eintrat, war die Verbindung in essigsaurer Lösung beständiger. Eine 5 proz. wässerige Lösung des Salzes blieb beim Erwärmen mit einigen Tropfen Essigsäure sowie Chlorbarium zunächst klar. Nach zehnminütigem Verweilen im siedenden Wasserbade zeigte sich erst eine minimale Abspaltung von Schwefelsäure, die dann an Stärke bald zunahm. In Gegenwart von HCl war die Loslösung von Schwefelsäure etwa in der Hälfte der Zeit nachweisbar. Die Zerlegung des Rohrzuckeranteiles ist schon zu erkennen, bevor freie Schwefelsäure auftritt. Beim Kochen mit Barytwasser entsteht nur wenig $BaSO_4$. Eine 5 proz. Lösung des Kalksalzes gerät

mit Hefe bei 24° in Gärung; ob dabei nur die eine, nicht an Schwefelsäure gebundene und durch Invertin in Freiheit gesetzte Hexose den alkoholischen Zuckerzerfall erleidet, oder ob beide Monosaccharide unter Entfernung des Schwefelsäurerestes vergären, muß später mit größeren Materialmengen entschieden werden.

b) Glucose-monoschwefelsäure.

11,0 g feinst gepulverte Glucose werden in 50 ccm Pyridin gut verteilt und auf — 15° abgekühlt. Zu dieser Suspension läßt man unter Turbinieren im Verlauf einer Stunde 3,3 ccm Chlorsulfonsäure in etwa 12 ccm Chloroform hinzutropfen. Das Reaktionsgemisch bleibt einige Stunden stehen. Darauf wird es bei 50° auf 10 ccm eingeengt und mit einer Aufschlämmung von 9 g reinem Calciumcarbonat in 80 ccm Wasser versetzt. Durch mehrmaliges Eindampfen mit Wasser in vacuo entfernt man die Pyridinreste und befreit die auf 50 ccm aufgefüllte Flüssigkeit schließlich durch Filtration von den ausgeschiedenen anorganischen Salzen.

Die auf 10 ccm eingeengte Lösung wird nun unter intensivem Rühren in 1 l absoluten Alkohols eingetragen. Es entsteht ein farbloser, sich zu Flocken zusammenballender Niederschlag, der nach 12 Stunden abzusaugen und mit Alkohol und Äther auszuwaschen ist. Das zunächst hygroskopische Rohprodukt wiegt nach Trocknung im Vakuum über Schwefelsäure 9,5 g. Zur Beseitigung von beigemengtem Calciumchlorid wird das Salz viermal in wenig Wasser aufgenommen und seine Lösung mit viel Alkohol gefällt. Man gelangt schließlich zu 1,7 g einer analysablen Substanz. Die Ausbeute läßt sich durch Behandlung der alkoholischen Mutterlaugen mit Äther oder Aceton erhöhen.

Die Analyse kennzeichnet den erhaltenen Stoff als normales Calciumsalz einer Glucose-monoschwefelsäure $(C_6H_{11}O_5 \cdot O \cdot SO_3)_2 Ca \cdot 6\,H_2O$. Es enthält vermutlich 6 Moleküle Wasser, die wegen der Temperaturempfindlichkeit der Substanz nicht als solche nachgewiesen werden konnten.

0,1601 g Substanz: 0,0133 g CaO und 0,1090 g $BaSO_4$;
0,1890 g Substanz: 0,1568 g $CO_2$, 0,0968 g $H_2O$.
$C_{12}H_{34}O_{24}S_2Ca$ (= 666):
Ber.: Ca = 6,01; S = 9,61; C = 21,72; H = 5,11%;
gef.: Ca = 5,94; S = 9,33; C = 22,62; H = 5,67%.

Eigenschaften. Das Salz löst sich sehr leicht in Wasser und reagiert auf Lackmuspapier neutral. Die Lösung gibt mit Oxalsäure sowie mit Ammoniumoxalat eine starke Fällung, bleibt dagegen auf Zusatz von Bariumchlorid auch beim Erwärmen klar. Erst nach dem Kochen mit Salzsäure spaltet sich Schwefelsäure ab. Die Substanz färbt sich beim Erwärmen mit Barytwasser unter Ablösung von Schwefelsäure gelb. Eine ähnliche Zerlegung tritt bei Einwirkung von Fehlingscher Flüssigkeit ein, die aus essigsaurem Kupfer bereitet ist und stark reduziert wird. Auch beim Kochen mit Cupriacetat allein wird etwas $Cu_2O$ abgeschieden. Die Lösung des Calciumsalzes wird nicht von Bleiacetat gefällt, wohl aber durch Bleiessig und noch stärker durch Bleisubacetat plus Ammoniak.

Als Drehungswert ermittelten wir vorläufig:

$$[\alpha]_D^{19} = +44{,}43^\circ$$

$$(\alpha = +1{,}94^\circ, \quad c = 2{,}183, \quad l = 2).$$

Diese orientierende Untersuchung wird in den erwähnten Richtungen fortgesetzt und soll auf andere Kohlenhydrate, auch stickstoffhaltige, ausgedehnt werden: manche dieser Produkte versprechen zugleich ein Interesse in zymochemischer Hinsicht.

## Druckfehlerberichtigung

zu der Mitteilung von Eduard Friedberg: „Quantitative Messung der zeitlichen Coffeinausscheidung beim Menschen nach einer neuen biologischen Methode", diese Zeitschr. 118.

Abbildung 2 gehört auf Seite 179 an Stelle von Abbildung 6.
„ 6 „ „ „ 176 „ „ „ „ 2.

# Autorenverzeichnis.





STACKS

141719



